

(10)日本国特許庁 (JP)

(12)公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2001-526778

(P2001-526778A)

(13)公表日 平成13年12月18日 (2001.12.18)

(51)Int.Cl.
C 0 1 N 33/563
31/29
33/53
37/00

識別記号
5 2 1
1 0 1

P I
C 0 1 N 33/563
31/29
33/53
37/00

チ-73-7 (参考)
5 2 1
T
1 0 1

審査請求 有 予審審査請求 有 (全166頁)

(20)出願番号 特願平10-541728
(22)出願日 平成10年3月24日 (1998.3.24)
(36)拒絶文提出日 平成11年9月27日 (1999.9.27)
(38)国際出願番号 PCT/US98/05681
(37)国際公開番号 WO98/43739
(39)国際公開日 平成10年10月8日 (1998.10.8)
(31)優先権主張番号 08/828,041
(32)優先日 平成9年3月27日 (1997.3.27)
(33)優先権主張国 米国 (U.S.)

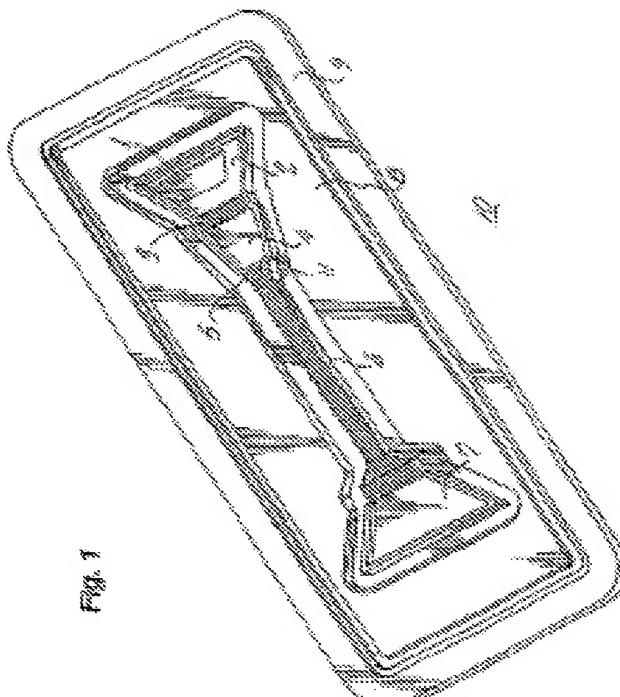
(11)出願人 バイオサイト・ダイアグノスティックス・インゴーボレーテッド
アメリカ合衆国カリフォルニア州92121,
サン・ディエゴ, ローゼル・ストリート
11030, スイート・ディー
(12)発明者 ピューチラー, ケネス・フランシス
アメリカ合衆国カリフォルニア州92130,
サン・ディエゴ, マニフェスト・プレイス
12523
(14)代理人 特許士 松本 一夫 (外5名)

最終頁に続く

(50)【発明の名称】 薬を使わずに試薬を試験移動する診断デバイス及び機器

(51)【要約】

本発明のアッセイデバイス、アッセイシステム及びデバイス部品は、キャビラリーの網羅だけ離れて配置された少なくとも2つの対向する表面を含み、その少なくとも1つは少なくとも1つの標的リガンド又は連結物を、ゾーン中の液体サンプルに由来するサンプルの標的リガンドの存在又は量に関連した量で、固定化することができる。このゾーンは液体を通過又は離脱させる等の制御された移動をするためのものである。本発明のデバイス部品は、既に付いた従来のアッセイデバイスに組み込まれ得るか、又は本明細書に記載され特許請求される発明力ある機のないデバイスにおいて使用され得る。上記の部品は、フロー制御エレメント、測定エレメント、タイムゲート、ピベット操作エレメントをなくすためのエレメント、及び、通常は、制御されたフロー、タイミング、デリバリー、インキュベーション、分離、洗浄及びアッセイ法の他の工程のためのエレメントを含む。



【特許請求の範囲】

1. 試験サンプル中の標的リガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む分析用デバイス：

構造アレイであって、構造各々は表面を含み、前記表面は固定化リガンド受容体であって；それへ共有結合的又は非共有結合的に付けられたものを含み；前記固定化リガンド受容体は標的リガンドへ結合することができるものである。前記構造アレイ；及び

1つ又はそれ以上のチャネルであって、前記チャネルを通って標的リガンドを含有する試験サンプルが流れるとき、標的リガンドはチャネルの端に譲つて分散して前記固定化物へ結合するものである、前記チャネル。

2. 該標的リガンドが、分析物、分析物連結体、分析物類似体、分析物類似体連結体、補助的な結合員、又は標識試薬である、請求項1に記載の分析用デバイス。

3. 該分析物が、抗原、ヌクレオチド配列、レクチン、又はアビシンであり。前記固定化物が、抗体、相補的ヌクレオチド配列、炭水化物、又はビオチンからなる群から選択される、請求項2に記載の分析用デバイス。

4. 該構造が、以下を含む群から選択される材料上に覆かれたコポリマー、ブレンド、ラミネート、金属化箔、金属化フィルム、又は金属から作られる、請求項1に記載の分析用デバイス：

ポリオレフィン、ポリエステル、ステレン含有ポリマー、ポリカーボネート、アクリル酸ポリマー、塩素含有ポリマー、アセタールホモポリマー及びコポリマー、セルロース類及びそのエスチル、硝酸セルロース、フッ素含有ポリマー、ポリアミド、ポリイミド、ポリメチルメタクリレート、イオウ含有ポリマー、ポリウレタン、シリコン含有ポリマー、ガラス、シリコーン、並びにセラミック材料。

5. 該構造が、プラスチック、エラストマー、ラテックス、シリコンチップ、又は金属で作られる、請求項1に記載の分析用デバイス。

6. 該構造が、テフロン(登録商標)、ポリスチレン、ポリアクリレート、ポ

リカーボネット、ポリエチレン、ポリプロピレン、シリコンエラストマー、ポリスチレンラテックス、又は疎水性ポリマーで作られる、請求項1に記載の分析用デバイス。

7. 該構造が、ポリプロピレン、ポリエチレン又はポリエステルを含む疎水性ポリマーで作られる、請求項6に記載の分析用デバイス。

8. 該構造が、繊維若しくは射出成形することのできるプラスチック、又は様々な鎖長のアルケンチオールに吸着された銅、銀及び金のフィルムで作られる、請求項1に記載の分析用デバイス。

9. 該構造が、混練又は射出成形することのできるプラスチックを含む、請求項8に記載の分析用デバイス。

10. 該構造各々が、類似に形状づけられ、形狀が、菱形、六角形、八角形、長方形、正方形、円形、半円形、三角形、及び橢円形からなる群から選択される、請求項1に記載の分析用デバイス。

11. 該構造アレイが、試験サンプルフローの方向に対してジグザグ配列である、請求項10に記載の分析用デバイス。

12. 該構造アレイが、前記試験サンプル中の多数のリガンドを試験することができる多数の固定化リガンド受容体を有する、請求項1に記載の分析用デバイス。

13. 試験サンプルを追加するためのリザーバであって、前記リザーバは構造アレイへ各々つながる複数の通路を含み、前記通路は前記リザーバから前記アレイへ試験サンプルを輸送することができるものをさらに含む、請求項1に記載の分析用デバイス。

14. 試験サンプル中のリガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む分析用デバイス：

入口孔及び通気孔；

構造アレイであって、構造各々は、共有結合的又は非共有結合的に表面に付けられた固定化リガンド受容体を供給する表面を有し、前記受容体は標的リガンドへ結合することができるものである、前記構造アレイ；

1つ又はそれ以上のチャネルであって、前記チャネルを通って標的リガ

ンドを含有する試験サンプルが流れるとき、前記標識リガンドは前記チャネルの幅に渡って分散して前記固定化物へ結合する。前記チャネル；及び

検出可能な標識へ連結された特定の結合員を含む標識化試験であって、前記標識は前記固定化受容体においてシグナルを発生し、試験サンプル中のリガンドの存在又は量を示すことができる前記標識化試験。

15. 該リガンドが、分析物、分析物連結体、分析物類似体、分析物類似体連結体、又は補助的な結合員である、請求項1-4に記載のデバイス。

16. 試験サンプル中の分析物の存在又は量を決定するための、以下を含む方法：

入口孔、通気孔、1つ又はそれ以上のチャネル、及び構造アレイを含み、前記構造各々は、構造の少なくとも1つの表面上に固定化受容体を有し、前記受容体はリガンドと結合することができる前記構造アレイ含む分析用デバイスを提供し；

前記試験サンプルを前記入口孔に入れ、前記チャネルが前記試験サンプルを前記入口孔から前記構造アレイへ運搬し；

前記試験サンプルが前記チャネルに入り、前記分析物が前記チャネルの幅に渡って分散し、そこで前記サンプルが固定化受容体を含む構造アレイと接触し、そこで前記サンプル中の分析物が前記固定化受容体と結合し；そして、

検出可能な標識に連結された特定の結合員を含む分析物検出システムを介して前記分析物を検出し、前記検出可能な標識は前記受容体-分析物結合物においてシグナルを発生することができ、前記サンプル中の前記分析物の存在又は量を決定する。

17. 該リガンドが、分析物、分析物類似体、補助的な結合員、又は標識試薬である、請求項1-6に記載のデバイス。

18. 試験サンプル中のリガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む方法：

入口孔、通気孔、及び複数のチャネルを有する構造アレイを含む分析用デバイスであって、前記構造アレイがその表面にリガンド又はリガンド類似体に結合するとのできる固定化受容体を含む、前記分析用デバイスを提供し；

前記試験サンプルを前記構造アレイに接触するように置き、それによつて前記受容体がサンプル中のリガンドの存在に対応する量の前記リガンド又はリガンド類似体と結合し；そして

受容体と結合したリガンド又はリガンド類似体の量を決定することによって前記試験サンプル中のリガンドの存在を検出する。

19. 該置くステップが、前記アレイ構造と接触するように前記試験サンプルを置き、そこで前記受容体がサンプル中のリガンドの存在に対応する量の前記リガンド又はリガンド類似体と結合することを含む、請求項18に記載の方法。

20. 構造間に1つ又はそれ以上のチャネルを有する構造アレイを有するマスクを提供し；そして

マスクのコピーを製造することを含む、マスクから分析用デバイスを製造する方法。

21. 断面で見たときに少なくとも1つの直線で挟まれた角を含むルーメンを含み、前記キャビラリースペースは、そのルーメン表面上に疎水性のゾーンを含むキャビラリースペース。

22. 該疎水性ゾーンが該角に接する、請求項21に記載のキャビラリースペース。

23. 該疎水性ゾーンが、該角に近接した表面を実質的にカバーする、請求項21に記載のキャビラリースペース。

24. 該疎水性ゾーンが、該角に近接した表面の1%～90%をカバーする、請求項21に記載のキャビラリースペース。

25. 該疎水性ゾーンが、親水性の表面に隣接している、請求項21に記載のキャビラリースペース。

26. 請求項21のキャビラリースペースを含むデバイス。

27. キャビラリースペースに適合するように配置され、その表面上に疎水性ゾーンを含む材料。

28. 該疎水性表面が、該材料の表面の1%～90%をカバーする、請求項27に記載の材料。

29. 該材料が、フィルター、膜又はメッシュを含む、請求項27に記載の材

料。

3 0. 該材料が少なくとも 1 つの直線で挟まれた角を含むキャビラリースペースに適合することができ、該材料の該疎水性表面が該キャビラリースペースの該角に隣接して置かれることのできる、請求項 2 7 に記載の材料。

3 1. 疎水性ゾーンを含む材料であって、該材料に液体を加えると該疎水性ゾーンが該材料表面上に又は該材料内部に、液体の別個のエリアを定めることができる材料。

3 2. 該材料が膜を含む、請求項 3 1 に記載の材料。

3 3. 該材料が表面を含む、請求項 3 1 に記載の材料。

3 4. 該表面がキャビラリーフローを促進する手段を含む、請求項 3 3 に記載の材料。

3 5. ゾーンであって：

その上に置かれた流体を有することができる領域、及びその上に置かれた流体を含有することができる該領域に接する疎水性領域であってそれにより該疎水性の領域が該流体フローが該疎水性の領域に入ることを妨げるものを含む前記ゾーン。

3 6. その上に置かれた流体を有することができる該領域が断面で見たときに少なくとも 1 つの直線で挟まれた角を含むチャンバの表面であり、及び該疎水性の領域が該チャンバのコーナーに近接した該チャンバ内に含まれる、請求項 3 5 に記載のゾーン。

3 7. その上に置かれた流体をすることのできる該領域が、該領域の床面に実質的に垂直なポストをさらに含み；前記ポストは、該ポスト表面と該床面のと間に直線で挟まれた角を規定し、前記ポストはこの直線で挟まれた角に近接した疎水性の表面を含む、請求項 3 5 に記載のゾーン。

3 8. 流体の均一な乾燥を促進する方法であって、以下を含む前記方法：

請求項 3 5 のゾーンを提供すること；

流体を置くことができる該領域へ流体を導入すること；そして
前記流体を乾燥させること。

3 9. 以下を含む請求項 3 8 に記載の方法：

断面で見たときに少なくとも 1 つの直線で挟まれた角を含み、コーナーに近接した疎水性領域を含むチャンバの表面を提供すること；

前記チャンバへ流体を導入すること；そして

前記流体を乾燥させること(ここで前記チャンバの疎水性領域は、均一な乾燥を妨害し得る流体メニスカスのコーナーにおける形成を防ぐことに役立つ)。

4.0. 疎水性の表面及び親水性の表面を含むキャビラリースペースを製造するための方法であって、以下を含む前記方法：

キャビラリースペースのルーメン表面を形成し得る親水性の表面に疎水性の材料を適用すること；又は

キャビラリースペースのルーメン表面を形成し得る疎水性表面の領域をマスクし、疎水性表面へ親水性の表面を產生するための手段を適用し、マスクされていない疎水性の表面をそれによって親水性のエリアとし、マスキングを除去して親水性エリアに近接した疎水性領域を露出させること。

4.1. 以下を含むアッセイデバイス：

サンプル追加リザーバ；

前記サンプル追加リザーバと流体でつながったサンプル反応パリア；

反応チャンバであって、前記サンプル反応パリアと流体でつながって、その壁に少なくとも 2 つのフィンガを有し、前記パリアが前記反応チャンバより高いキャビラリー作用を有する前記反応チャンバ；

前記反応チャンバと流体でつながって、流体を所望の流速で通過させることが可能であるタイムゲート；

前記タイムゲートと流体でつながって、少なくとも 1 つの連結体を少なくとも 1 つのゾーンに固定化し得る診断エレメント；及び

前記診断エレメントと流体でつながって、前記サンプル追加リザーバから前記パリア、前記反応チャンバ、前記タイムゲート、前記診断エレメントと連続的に流れれる流体が次に流れてくる使用済み試薬リザーバ。

4.2. 該サンプル追加リザーバが、液体サンプルから粒子状の物質を分離し得るフィルターを含む、請求項 4.1 に記載のデバイス。

4 3. 該サンプル反応パリアが、その表面に複数のテクスチャーモードを含み、前記テクスチャーモードが高さ0.01～0.02 mm、幅0.10～0.20 mmであり、隣接するテクスチャーモード間の距離が0.08～0.10 mmである、請求項4 1に記載のデバイス。

4 4. 該反応チャンバが約0.03～0.07 mmの高さを有するキャビラリースペースを含む、請求項4 1に記載のデバイス。

4 5. 該反応パリアが、コーナーを有し、かつ前記コーナーにおいて疎水性ゾーンを含む、請求項4 1に記載のデバイス。

4 6. 該反応パリアが、10の垂直な溝を含み、各々の前記溝が高さ約0.02～0.03 mmであり、各々の前記溝が約0.5～1.5 mm離れて隔てられている、請求項4 1に記載のデバイス。

4 7. 該反応チャンバが、高さ約0.03～1.0 mmのキャビラリースペース及び約0.2～6 μ lの容積を含む、請求項4 1に記載のデバイス。

4 8. 該反応チャンバが複数のテクスチャーモードを含み、前記テクスチャーモードの各々が高さ約0.015～0.03 mm、直徑約0.05～0.1 mmのポストであり、かつ近接したポストが約0.015～0.025 mm離れて隔てられている、請求項4 1に記載のデバイス。

4 9. 該反応チャンバが液体フローの主方向に対して垂直に配向されている複数の溝を含み、前記溝の各々が高さ約0.03～0.07 mmであり、かつ近接した溝が約0.08～0.12 mm離れている、請求項4 1に記載のデバイス。

5 0. 該反応チャンバがエッジ又はコーナーを含み、前記エッジ又はコーナーに疎水性ゾーンを含む、請求項4 1に記載のデバイス。

5 1. 該タイムゲートが約0.02～0.12 mmの高さで、液体フローの主方向に対して垂直に配向されている複数の溝を含み、前記溝の各々が高さ約0.03～0.07 mmであり、かつ近接した溝が約0.08～0.12 mm離れている、請求項4 1に記載のデバイス。

5 2. 該診断エレメントが約0.01～0.05 mmの高さで、かつ約0.5～3 μ lの容積を含む、請求項4 1に記載のデバイス。

5 3. 該診断エレメントが複数のテクスチャーモードを含み、前記テクスチャーモード

構造のそれぞれが高さ約0.01～0.02mm、直徑約0.03～0.07mmであり、かつ近接したテクスチャーモードが約0.04～0.09mm離れている、請求項4.1に記載のデバイス。

5.4. 該診断エレメントがエッジ又はコーナーを含み、かつ前記エッジ又はコーナーに疎水性ゾーンを含む、請求項4.1に記載のデバイス。

5.5. 該使用済み試薬リザーバが約0.01～0.05mmの高さで、かつ約1μlより多い容積を含む、請求項4.1に記載のデバイス。

5.6. 該使用済み試薬リザーバが複数のテクスチャーモードを含み、前記テクスチャーモードの各々が高さ約0.01～0.02mm、直徑約0.03～0.07mmであり、かつ近接したテクスチャーモードが約0.04～0.09mm離れている、請求項4.1に記載のデバイス。

5.7. 該診断エレメントの表面と前記使用済み試薬リザーバの表面との間に位置付けられるデッドスペース領域をさらに含む、請求項4.1に記載のデバイス。

5.8. アッセイを実施することが可能なデバイスであり、前記デバイスはアッセイを実施している間流体と接触している2つ又はそれ以上の表面を含み、第一の流体接触デバイス表面がその上に固定化された第一の免疫アッセイ試薬を含みかつ第二の流体接触デバイス表面がその上に固定化された第二の免疫アッセイ試薬を含むものである、前記デバイス。

5.9. アッセイされるべき流体がアッセイの間流れキャビラリースペースを含み、前記キャビラリースペースが2つ又はそれ以上の流体接触表面を含み、前記キャビラリースペースの第一の流体接触表面がその上に固定化された第一の免疫アッセイ試薬を含み、前記キャビラリースペースの第二の流体接触表面がその上に固定化された第二の免疫アッセイ試薬を含む、請求項5.8に記載のデバイス。

6.0. 該第一の免疫アッセイ試薬が前記第一の流体接触表面上に分散し得るほどに固定化され、該第二の免疫アッセイ試薬が前記第二の流体接触表面上に分散し得るほどに固定化され、又はいずれの免疫アッセイ試薬もいずれの流体接触表面に分散し得るほどに固定化されていることをさらに含む、請求項5.8に記載のデバイス。

6.1. 該第一の免疫アッセイ試薬が前記第一の流体接触表面上に分散し得ない

ほどに固定化され、前記第二の免疫アッセイ試薬が前記第二の流体接触表面上に分散し得ないほどに固定化され、又はいずれの免疫アッセイ試薬もいずれの流体接触表面に分散し得ないほどに固定化されている、請求項5.8に記載のデバイス。

6.2. 該キャビラリースペースが第三の流体接触表面を含み、このとき前記第三のキャビラリースペースの表面がそこに固定化されている第三の免疫アッセイ試薬を含む、請求項5.8に記載のデバイス。

6.3. 該第三の免疫アッセイ試薬が該第三の流体接触表面に分散し得るほどに固定化されているか、又は前記第三の免疫アッセイ試薬が前記第三の流体接触表面に分散し得ないほどに固定化されている、請求項6.2に記載のデバイス。

6.4. 該キャビラリースペースが、固定化された免疫アッセイ試薬を含む粒子をさらに含む、請求項5.8に記載のデバイス。

6.5. アッセイを実施することが可能であるデバイスであって、前記デバイスがストップ及びエネルギー・ディレクタを含み、

このとき、デバイスの製造の間に、該エネルギー・ディレクタは第一のデバイス部品を第二のデバイス部品に封止してデバイス内にキャビラリースペースを規定することに役立ち、かつ該ストップは均一な大きさを有するデバイスチャンバーの製造を可能にすることに役立つものである、前記デバイス。

6.6. 該ストップ及び該エネルギー・ディレクタが、単一の構造を含む、請求項6.5に記載のデバイス。

6.7. 該ストップ及び該エネルギー・ディレクタが、流体の流入し得ないデバイスのデッドスペース領域を定める、請求項6.5に記載のデバイス。

6.8. 該ストップが、ポスト又はリッジを含む、請求項6.5に記載のデバイス。

6.9. 該エネルギー・ディレクタが、ポスト又はリッジを含む請求項6.5に記載のデバイス。

7.0. 乾燥された試薬の均一な層の配置を促進するように配置された表面であ

って、前記表面が液体が接触して置かれるときに複数のメニスカスが形成されることを可能にする複数のテクスチャー構造を含む、前記表面。

7.1. 請求項7.0の表面を含む、アッセイを実施することが可能であるデバイス。

7.2. 乾燥された試薬の均一な層を表面に配置するための方法であって、以下を含む前記方法：

　　請求項7.0の表面を提供すること；

　　前記表面に接触して流体を置くこと；そして

　　前記流体を乾燥させること。

7.3. 該乾燥工程が、蒸発の起こる時間待つこと又は蒸発を促進するために外部のエネルギー源を適用することを含む、請求項7.2に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

膜を使わずに試薬を制御移動する診断デバイス及び機器

本出願は出願中の出願連続番号08/447, 895(1995年5月23日提出)の部分継続であり;出願中の出願連続番号08/447, 981(1995年5月23日提出)、出願連続番号08/447, 895及び出願連続番号08/447, 981は、それぞれ出願連続番号08/065, 528(放棄)(1993年5月19日提出)の部分出願であった。この出願は、出願連続番号07/887, 526(1992年5月21日提出; 1995年10月17日、特許第5,458,852号として発行)の部分継続であった。上記のいずれからも優先性が主張されていて、上記のいずれもそのまま本明細書に援用する。

発明の技術分野

本発明は单一の試験フォーマットにおいて1つ又はそれ以上の分析物の定性的、半定量的及び定量的測定を含むアッセイを実施するためのデバイスに関する。

発明の背景

ここ何年にもわたり、生物学的、環境及び工業上の液体における興味深い標的リガンドの存在を迅速に検出するために、数多くの単純化された試験システムが設計されてきた。標的リガンドの同義語は分析物又は標的分析物である。その最も単純な形態のひとつでは、これらのアッセイシステム及びデバイスは、標的リガンドと反応して目に見える反応を示すことができるテスト試薬とそのテスト試薬が貫流する吸着紙又は膜との組み合わせを通常含む。紙製品、ガラス繊維及びナイロンがこのデバイスの吸着材料として一般に使用される。ある場合は、テスト試薬を含む吸着成分の部分が、物理的に又はキャビラリー作用を介して、標的リガンドを含むサンプルと接触される。この接触は多様なやり方で実現され得る。最も一般的には、水性のサンプルを、多孔性のポリエチレンやポリプロピレン又は膜のような多孔性又は吸着性の成分にキャビラリー作用を介して浸透させ、テ

スト試薬を含む多孔性または吸着性の成分の部分に通す。別の場合は、テストデバイスの外でテスト試薬を前もって混合し、次いでデバイスの吸着成分に加え、

最後はシグナルを発生させる。

市販されている診断用製品は濃縮ゾーンという方法を利用する。ICON(登録商標)(ハイブリティック・インコ一ポレイティド)、TESTPACK(商標)(アネット・ラボラトリーズ)又はACCULVEL(登録商標)(シヴァコーポレーション)のような製品では、デバイスは、特定の結合対成分が固定化された多孔性成分の内部に免疫吸着又は捕縫ゾーンを含む。この多孔性成分の表面はまたシグナル発生システムの1つ又はそれ以上のエレメントを含むように施設され得る。このようなデバイスには、液体を免疫吸着ゾーンに引き込むこと、液体サンプル及び試薬を吸引すること、及び液体が免疫吸着ゾーンに引き込まれる速度を制御することに役立つ液体吸着ゾーンがある。この液体吸着ゾーンは、免疫吸着ゾーンの外側にある追加用の多孔性成分か又はこの免疫吸着ゾーンとキャビラリーでつながっている吸着材料である。多くの市販のデバイス及びアッセイシステムはまた、適切なゾーンで多孔性成分をシグナルで試験することによってサンプル中の標的リガンドの存在又は量が測定できるように、非特異的に結合したシグナル発生物を免疫吸着ゾーンから洗浄除去する洗浄工程を含む。

吸着膜をサンプル及び試薬のキャリアーとして使用することの限界を含む先行技術のアッセイデバイス及びシステムの限界に加えて、アッセイデバイスは、実験室の比較的熟練したユーザーにしか手がかない肝要なビペット操作工程を含む多くの工程を一般に含む。従って、デバイス内の試薬のフローを制御することに加え、デバイスの特定エリアにおいて試薬フローのタイミングを制御する1工程のアッセイデバイス及びシステムに対するニーズが存在する。さらに、肝要なビペット操作工程を必要としないが、それでも半定量的及び定量的測定ができるアッセイデバイスへのニーズがある。

図面の説明

図1は、本発明によるデバイスの部分概略平面斜視図である。

図1Aは、サンプル追加リザーバ、サンプル反応パリア、反応チャンバ、タイムゲート、及び診断エレメント開始部のエリア内の詳細を示す、デバイスの部分概略斜視拡大図である。

図1 Bは、選択的試薬リザーバ、サンプル追加リザーバ、サンプル反応パリア、反応チャンバ、タイムゲート及び診断エレメント開始部のエリア内の詳細を示す、デバイスの部分概略斜視図大図である。

図1 Cは、サンプル追加リザーバ及び反応チャンバと流体で選択的試薬リザーバのエリア内の詳細を示す、デバイスの部分概略斜視図大図である。

図1 Dは、フロー制御手段の部分概略斜視切り取り図である。

図2は、本発明による前もって混合した反応混合物を追加するためには使用され得る、第二のデバイスの部分概略斜視図である。

図3は、捕獲ゾーンのいくつかの可能な配置を示す、診断エレメントの部分概略平面図である。

図4は、使用済み試薬リザーバの部分概略斜視図である。

図5は、柱状である又は曲がった対向表面を有するこれらデバイスの実施形態の部分概略図である。

図6は、タイムゲートの平面図である。

図7は、好ましいタイムゲートの曲面的な大きさを示す。

図8は、連續的なタイムゲートの平面図である。

図9 A～Dは、好ましいテクスチャ― (texture) 表面の図であり、図示されるように、テクスチャ―表面は曲線状又は直線状の表面を有するテクスチャ―構造を含み得て、その表面は滑らかであるか又は滑らかではない。例示的なテクスチャ―構造は円錐形 (図9 B～C)、六角形 (図9 D) 又は丘形 (図9 A) である。図9に図示される構造は、一般にポスト (post) とみなされる。

図10は、凹凸のフロー面 (front) を図示する。

図11は、本発明によるデバイスの好ましい実施形態を図示する。

図12 A～Fは、本発明によるストップ (stop) 及びエネルギー・ディレクタ (energy director) の様々な実施形態を各々図示する。図12 A、12 C及び12 Eは蓋の付いてない様々な実施形態を図示し、図12 Bは図12 Aに蓋が付いた実施形態を図示し、図12 Dは図12 Cに蓋が付いた実施形態を図示し、図

2-Fは図12-Eに蓋が付いた実施形態を示す。図12のエネルギー・ディレクタ及びストップはポスト又はリッジ(ridge)として形成され得る。

図13は、サンブル追加リザーバ1、テクスチャ1のあるサンブル反応バリア3、テクスチャ1のある反応チャンバ4、テクスチャ1のある使用済み試薬リザーバ7、ストップ60、ポイント70及びエネルギー・ディレクタ62を示す。本発明の実施形態の電子顕微鏡写真を示す。

図14は、テクスチャ1のあるサンブル反応バリア3、テクスチャ1のある反応チャンバ4、エネルギー・ディレクタ62及びストップ60を示す。図13の部分拡大図である。

図15は、タイムゲート5、テクスチャ1のある診断レーン6及びエネルギー・ディレクタ62を示す。本発明の実施形態の電子顕微鏡写真を示す。

図16A～Bは、エネルギー・ディレクタ62に近接したテクスチャ表面の2つの画面の電子顕微鏡写真を示す。この実施形態に示されるエネルギー・ディレクタはリッジの形態を有する。

発明の概要

本発明の発明力あるデバイス及び方法は、デバイス及び方法を提供する先行技術に見出される問題点を克服するものであり、正確なピベット操作を必要とせず、吸着成分を使用せず、デバイスにおける制御された試薬の動きのための新規なテクスチャ及びエレメントを含み、定量化的なアッセイを提供し得る。

本明細書で記載されるデバイスは、試薬の固定化やデバイス内の試薬フローを制御するための基質のような膜等の、吸収性又は有孔性の材料を使用しない。診断デバイス内の膜の欠点は、例えば、微視的及び巨視的なスケールで、膜の生産が必ずしも容易に再現し得ないことである。このことは、非特異的な結合やフロー特性が様々に異なっている診断デバイスを生む可能性がある。膜はアッセイの検出限界を上昇させ得る非特異的な結合に非常に影響される。しかしながら、1つの実施形態では、本発明のタイムゲートは膜に埋め込まれ、膜とともにデバイス内で使用され得る。

米国特許第4,879,215号、4,945,205号及び4,960,6

91号に記載されたような免疫クロマトグラフィーアッセイ・フォーマットの場合、診断エレメントとして膜を使用することで、試薬が膜内を均一に流れることが要求される。免疫クロマトグラフィーアッセイにおけるアッセイ試薬の不均一な流れの問題は、米国特許第4,756,828号、4,757,004号及び4,883,688号に論じられているが、これらは本明細書に援用する。上記の特許は、吸収性材料の縁エッジを変更することが前述面の形状を制御すると教示している。

本発明のデバイスは、溝(groove)表面を含む規定された表面、キャビラリー作用、タイムゲート、チャネル(channel)を含む斬新なキャビラリー及び斬新な流体フロー制御手段(これらはすべて非吸収性の材料から構成される)を単独又は組み合わせて使用することによって、膜に関連した上記の問題を回避する。本発明の好ましい形態では、診断エレメントのキャビラリーチャネルはアッセイ試薬のフローに対して垂直な溝からなる。溝表面の製造は射出成形によって達成され、十分な再現性で試薬のデバイス内フローの制御を提供し得る。

本発明のアッセイデバイス、アッセイシステム及びデバイス部品は、キャビラリーの距離だけ離れて配置された2つの向き合う表面を含み得る。その表面の少なくとも1つは、サンプルの標的リガンドの存在又は量に関連した量において少なくとも1つの標的リガンド又は連続体を検出する能力を含む。本発明のデバイス部品は、膜の付いた従来のアッセイデバイスに組み込まれ得るか、又は本明細書に記載され特許請求される発明力ある膜のないデバイスにおいて使用され得る。本発明の部品は、フロー制御エレメント、測定エレメント、タイムゲート、ビペット操作工程をなくすためのエレメント、及び、通常は、制御されたフロー、タイミング、デリバリー、インキュベーション、分離、洗浄及びアッセイ法の他の工程のためのエレメントを含む。

先行技術のアッセイ部品と違って、本明細書で記載される本発明のアッセイ部品は、紙や膜のような吸収性の材料の使用を必要としない。本発明の発明力あるデバイスは、溝及びテクスチャ表面を含む規定された表面及びキャビラリー作用を、単独又は様々に組み合わせて、テスト試薬を移動させるために使用することに依存する。本明細書に記載される本発明のデバイスは、制御され、定時に試

素がデバイス内を運動するための手段を提供し、正確なピペット操作を必要としない。本発明のコンセプト及びデバイスは、水のような環境及び工業上の流体及び、尿、血液、血清、血漿、脊髄液、羊水といったような生物学的体液及び生成物の免疫アッセイ及び核酸アッセイの実施において特に有用である。

従って、開示されるのは、試験サンプル中の分析物の存在又は量を決定するための分析用デバイスである。このデバイスは、共有結合的または非共有結合的に結合した、標的リガンドと結合し得る、固定化リガンド受容体を提供する表面を有する1つ又はそれ以上の構造アレイを含む。このデバイスはまた、前記分析物、分析物類似体、補助的な結合成分又は標識試薬を含む前記試験サンプルが貫流し、前記分析物、分析物類似体、補助的な結合成分又は標識試薬がその幅全域に拡散して前記固定化試薬に結合する、複数のチャネルを含む。

本発明のデバイスは、入口孔及び通気孔、共有結合的または非共有結合的に表面と結合し、リガンドと結合し得る固定化リガンド受容体を提供する表面を各構造が有する構造アレイ、リガンドを含む試験サンプルが貫流し、前記リガンドがその幅全域に拡散して前記固定化受容体と結合する複数のチャネル、及び前記固定化受容体において試験サンプル中のリガンドの存在又は量を示すシグナルを產生し得る検出可能な標識体と結合した特定の結合成分を含む標識試薬、を含み得る。

開示されるのは、サンプル追加リザーバ、前記サンプル追加リザーバと流体でつながったサンプル反応パリア、前記サンプル反応パリアと流体でつながった、その壁面に少なくとも2つのフィンガを有する反応チャンバ(前記反応パリアは前記反応チャンバよりも高いキャビラリー作用を有する)、この反応チャンバと流体でつながった、所望の流れで流体を通過させることができるタイムゲート、このタイムゲートと流体でつながった、少なくとも1つのゾーンにおいて少なくとも1つの連結体を固定化し得る診断エレメント、及び前記診断エレメントと流体でつながり、流体が前記リザーバから前記パリア、前記反応チャンバ、前記タイムゲート、前記診断エレメント、次いでここへ連結して流れることを可能にする使用済み試薬リザーバ、を含むアッセイデバイスである。

開示されるのはアッセイを実施し得るデバイスであり、前記デバイスはアッセ

イ実施の間流体によって接触している2つ又はそれ以上の表面を含み、ここで第一のデバイス表面はそこに固定化された第一の免疫アッセイ試薬を含み、第二のキャピラリースペース表面はそこに固定化された第二の免疫アッセイ試薬を含む。

開示されるのはアッセイを実施し得るデバイスであり、前記デバイスはストップ及びエネルギー・ディレクタを含む。従って、このデバイスの製造の間、このエネルギー・ディレクタは、第一のデバイス部品を第二のデバイス部品に封止すること及びデバイスのキャピラリースペースを規定することに役立ち、ストップは均一な大きさを有するデバイスチャンバの製造を可能にすることに役立つ。

開示されるのは、流体を配置させ得る領域、及びその領域に隣接してそこに配置された流体を含み得る疎水性領域を含むゾーンであり、この疎水性領域はその疎水性領域への流体フローを妨害する。また開示されるのはこのゾーンを含むアッセイデバイスである。さらに開示されるのは液体の均一な乾燥を促進するための方法であって、この方法は、ゾーンを提供すること、流体を配置し得るゾーン領域へ液体を導入すること、及び前記液体を乾燥することを含む。

本発明によるデバイスを使用して、研究対象である分析物を含むと思われる液体サンプルに対してアッセイを実施した。

開示されるのは、乾燥された試薬の均一な層の配置を促進するように形成された、複数のテクスチャー構造を含む表面であり、それによって液体がこの表面に接触しているときに複数のメニスカスが形成される。本発明による表面及びそのような表面を含むデバイスを使用して、前記表面の上に乾燥された試薬の均一な層を形成することを促進した。

開示されるのは、分析用デバイスをマスタから複数する方法である。本発明によるデバイス特性を含むマスタ、例えば、その中に1つ又はそれ以上のチャネルを有する構造アレイを有するマスタが提供される。その後は当業者によく知られている製造技術に準拠して、このマスタのコピーが作られる。

開示されるのは、疎水性の表面及び親水性の表面を含むキャピラリースペースを製造する方法である。この方法は、キャピラリースペースのルーメンの(内腔の: lumen)表面を形成し得る親水性の表面に疎水性の材料を塗布すること、

又は疎水性表面の領域をマスクすること、マスクされていない表面エリアが親水性になるように表面の親水性表面を產生するための手段を適用すること、及びキャビラリースペースのルーメン表面を形成し得る表面の疎水性領域を露出するためにマスキングを取り除くこと、を含む。

開示されるのは、断面で見たときに少なくとも1つの直線で挟まれた角 (rectilinear angle) を含むルーメンを含むキャビラリースペースであり、ここでこのキャビラリーはまたそのルーメン表面上に疎水性のゾーンを含む。さらに開示されるのは、その表面に疎水性のゾーンを含む、キャビラリースペースに適合するように形成された材料である。さらに開示されるのは、疎水性ゾーンを含む材料であり、このゾーンは、その材料に液体が付加すると、その材料の上又は内部の表面にある液体の別個のエリア範囲を定め得る。

定義

本明細書のクレーム及び仕様を解釈するにあたって、以下の用語は以下に示す意味を有する。

標的リガンド — 1つ又はそれ以上の受容体に対する結合パートナー。標的リガンドの同義語は分析物、リガンド又は標的分析物である。

リガンド — 1つ又はそれ以上のリガンド受容体に対する結合パートナー。リガンドの同義語は分析物である。例えば、リガンドは抗原、核酸配列、レクチン又はアビシンを含み得る。

リガンド類似体 (Ligand Analogue) — 共有結合的または非共有結合的に他の分子種、例えば、シグナル発生エレメントに対して結合し得る標的リガンドの化学的誘導体。リガンド類似体と標的リガンドは同一である場合もあり、いずれも一般にリガンド受容体に結合し得る。リガンド類似体の同義語は分析物類似体又は標的分析物類似体である。

リガンド類似体連結体 (Ligand Analogue Conjugate) — リガンド類似体とシグナル発生エレメントの連結体。リガンド類似体連結体は標識リガンド類似体として言及され得る。

シグナル発生フェーズ — シグナル発生のためのシグナル発生エレメントに

圍むる材料、例えば酵素基質溶液、を含むフェーズ。

受容体 — 標的リガンド、典型的には抗体、結合フラグメント、相補的核酸配列、炭水化物、ビオチン又はキレートと反応する又は結合する化学的又は生化学的分子種であるが、受容体である標的リガンドを検出するようにアッセイが設計されていればリガンドにもなり得る。受容体はまた標的リガンドと特異的に反応する酵素又は化学試薬を含み得る。受容体は試薬又は結合成分として言及され得る。標識受容体でも固定化受容体でもない受容体は、補助的受容体又は補助的結合成分として言及され得る。例えば、受容体は抗体を含み得る。

リガンド受容体連結体 — リガンド受容体とシグナル発生エレメントの連結体であり、この用語の同義語は、結合成分連結体、試薬連結体、標識試薬又は標識結合成分を含む。

シグナル発生エレメント — アッセイ法の結果として視覚的に又は機器で検出され得るシグナルを直接的又は間接的に引き起こすエレメント。受容体及びリガンド類似体は共有結合的又は非共有結合的にシグナル発生エレメントと結合し連結体を形成し得るが、そのように結合したとき、これらの物質は標識化されたものとして言及され得る。リガンド類似体連結体又は受容体連結体のエレメントは、シグナル発生フェーズと結びつくとき、検出し得るシグナル、例えば酵素を発生する。

反応混合物 — 標的リガンドを含むと思われるサンプル及びそのサンプル中の標的リガンドの存在又は量を決定するための試薬、例えばリガンド受容体連結体又は受容体連結体との混合物。本明細書で使用するように、反応混合物は、標的であり得るタンパク質様の成分、サンプルの成分又は追加物（例、血清アルブミン、ゼラチン、乳タンパク質）を含み得る。

リガンド補体 (Ligand Complement) — リガンド類似体連結体、受容体、リガンド類似体構築体又はシグナル発生エレメントを標識するときに使用される特殊化されたリガンド。

リガンド補体受容体 — リガンド補体の受容体。

リガンド類似体 — リガンド補体連結体—リガンド類似体、リガンド補体及

びシグナル発生エレメントからなる連結体。

捕捉効率 (Capture Efficiency) — リガンド類似体連結体や受容体連結体

のような反応混合物中の成分が診断エレメントの捕捉ゾーンに結合する効率。

捕捉ゾーン — リガンド類似体連結体や受容体連結体のような反応混合物中の少なくとも1つの成分と結合する診断エレメント上のエリア。

キャビラリー作用 (毛細管作用 : Capillarity) — キャビラリースペースによって誘導される力、又はキャビラリー作用の発現。キャビラリー作用は固体表面か液体表面、又はその両方によって影響され得る。

バイオセンサー — 標的リガンドの存在又は量を決定するために使用される任意の電気化学的、光学的、電気光学的又は感覚／機械的デバイス。例えば、電気化学的バイオセンサーは電位差及び電流測定を利用し、光学的バイオセンサーは吸光、螢光、発光及び消食波を利用する。感覚／機械的バイオセンサーは圧電性結晶共振、表面音波、フィールド効果トランジスタ、化学フィールド効果トランジスタ及び酵素フィールド効果トランジスタを利用してする。バイオセンサーはまた受容体結合反応が起こる溶液の物理的性質の変化を検出し得る。例えば、バイオセンサーはラテックス粒子が抗原に結合したときの凝集度の変化を検出し得るし、また、受容体結合反応に呼応した溶液粘度の変化を検出し得る。

発明の詳細な説明

本発明は少なくとも1つの標的リガンドの存在または量を測定するための診断テストデバイスに指向されている。図1は本発明によるデバイス10の好ましい実施形態を示す。一般に、本発明のデバイスは約2mm～15mmの厚さ、約3cm～10cmの長さ及び約1cm～4cmの幅を有する。この範囲はアッセイの特殊な目的に応じて調整され得る。

図1に示すように、本発明の1つのデバイスは、本明細書で開示され特許請求される本発明のデバイス及びデバイス部分のいくつかの特徴を通常示す。デバイス10は、サンプル追加ゾーン1、サンプル追加リザーバ2、サンプル反応リザーバ3、反応チャンバ4、タイムゲート5、診断エレメント6及び使用済み試薬リザーバ7といった様々なエレメントを含む。このデバイスは、頂部8が底部9に

キャビラリーの長さだけ離れて配置されるときに形成され、試薬及びサンプルをデバイス全体に移動させるキャビラリーチャネルよりなる。限定しないが、接着

、

超音波溶接、鍛締めといったようなやり方を含む多數の技術によって、この頭部及び底部が合体され、様々なチャンバが封止され、キャビラリーが形成され得る。デバイスのエレメントは、多種多様な所望の機能を実現するために診断エレメント6と様々に組み合わせて使用され得る。当業者が認めるように、これらのエレメントは1工程又は多工程のアッセイを実施するために組み合わせ得る。デバイス10はまたアッセイ法のための反応混合物の形成にも使用され得る。図2のデバイス20は、標的リガンドの存在又は量に関連するシグナル発生のために、前もって混合した反応混合物を追加するために使用され得る。

図1Bおよび図1Cに示されるように、選択的試薬リザーバ17はデバイス10又は20に取り込まれ得る。デバイス10及び20はまた、図1Dに示されるように、選択的流体制御手段18とともに使用され得る。

構成は、限定されないが、以下を含む：1) 膜のような吸収性材料から構成されない診断エレメント、2) サンプル又は反応混合物の容積を制御する手段、3) タイムゲート、4) 本明細書において「フィンガ」と呼ばれる新規なキャビラリー手段、5) 本明細書において「ギャップ」として言及され得る新規なフロー制御手段、及び6) 試薬のバックフローを防ぐ使用済み試薬リザーバ。当業者はこれらのエレメントが各々で新規かつ非自明であり、様々に組み合わせて診断デバイスに組み込まれ、当業者に知られている他のエレメントとともに使用されて、新規かつ非自明な診断テストデバイスと、これまで実現されなかった便益をもたらすことを理解するだろう。

本デバイスの部品（即ち、デバイスの他の部分から独立しているか独立していない物理的構造体）は、コポリマー、ブレンド、ラミネート、金属化箔、金属化フィルム又は金属から製造され得る。また別に、デバイス部品は、以下の素材のひとつが蒸着したコポリマー、ブレンド、ラミネート、金属化箔、金属化フィルム又は金属から製造され得る：ポリオレフィン、ポリエチレン、ステレン含有ポ

リマー、ポリカーボネート、アクリル酸ポリマー、塗素含有ポリマー、アセタール・ホモポリマー及びコポリマー、セルロース類及びそのエスチル、硝酸セルロース、フッ素含有ポリマー、ポリアミド、ポリイミド、ポリメチルメタクリレート、イオウ含有ポリマー、ポリウレタン、シリコン含有ポリマー、ガラス及びセラミック材料。

また、本デバイスの部品は、プラスチック、エラストマー、ラテックス、シリコンチップ又は金属を使用して製造されるが、エラストマーはポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリアクリレート、シリコンエラストマー又はラテックスを含み得る。

また、本デバイスの部品は、ラテックス、ポリスチレンラテックス又は疎水性ポリマーから製造され得るが、疎水性ポリマーはポリプロピレン、ポリエチレン又はポリエチルを含み得る。

また、本デバイスの部品は、テフロン(登録商標)、ポリスチレン、ポリアクリレート又はポリカーボネートを含み得る。

また、デバイス部品は、混練(mixed)又は射出成形され得るプラスチック又は様々な鎖長のアルケンチオールに吸着される鋼、鉄及び金のフィルム表面から製造される。混練又は射出成形され得るプラスチックの構造物は、ポリスチレン、ポリカーボネート又はポリアクリレートを含み得る。

デバイス10及び20のエレメントをそれぞれ別々に記載した後、本発明のデバイスの代表的な記載を次に続ける。

サンプル追加ゾーン

図1及び2を参照すれば、デバイス10及び20のサンプル追加ゾーン1はサンプルがデバイスへ導入されるエリアである。このサンプル追加ゾーン1は、円、橢円、四角といった様々な形状をしたポートであり得るか、又はこのゾーンはデバイス内のリザーバであり得る。

サンプル追加リザーバ

図1及び2を参照すれば、サンプル追加リザーバ2はサンプルを受け取るデバイスのエレメントである。図1を参照すれば、サンプル追加リザーバ2の容量は

少なくとも反応チャンバー4の容量と同じかより大きくなければならない。サンプル追加リザーバ2はキャビラリースペースであり得るか又は開いたリザーバであり得る。さらに、サンプル由來の粒子状物質を通過する、又は血液がデバイスを

通過し得るように血液から血液細胞を通過するために、サンプル追加リザーバ2の内部又は上部にフィルターエレメントを配置し得る。サンプル追加リザーバ2はリザーバを構成している気体及び液体の流出を促進する通気孔(図示せず)を含み得る。

好みしい実施形態では、サンプル追加リザーバ2の容量又はキャパシティは、反応チャンバー4の容量の1～5倍である。一般に、過剰のサンプルを使用して診断エレメント6を洗浄する場合、アッセイ法から生じる診断エレメント6由來の非結合性試薬を完全に除去するために十分な量のサンプルが必要とされるよう、このリザーバ2の容量又はキャパシティは選択される。

リザーバ2はまたアッセイ法に使用されるある乾燥された試薬を含み得る。例えば、このリザーバ2で界面活性剤を乾燥し、サンプル追加時に溶かすことができる。サンプル中の界面活性剤は、液体の表面張力を下げることにより、サンプル及び反応混合物をデバイスを通過する運動を助ける。サンプル追加リザーバ2は、一般にサンプル反応バリア3(図1)又は診断エレメント6(図2)と直接液体で接触した状態にある。

サンプル反応バリア

図1に図示されるように、サンプル反応バリア3はサンプル追加リザーバ2中のサンプルを反応チャンバー4中の反応混合物から分離する。サンプル反応バリアが所望されるのは、正確な反応混合物量を形成する能力をデバイスに提供するからである。半定量的又は定量的な結果が所望されるアッセイでは、反応混合物の正確な容量が一般に必要である。従って、サンプルが流入し得る容量の正確な反応チャンバーをサンプル反応バリアが形成するので、このデバイスに対してはサンプルの正確なピペット操作工程が必要とされない。サンプル反応バリア3が所望されるのは、反応チャンバー4で起こる反応が好ましくはサンプル追加リザーバ2中の過剰なサンプルから分離されねばならないからである。

サンプル反応バリア3は、通常約0.01 mm～0.2 mmの範囲にある狭いキャビラリーを含み、このキャビラリーの表面は滑らかであるか、又は单一の溝又はサンプルのフローに対して平行又は垂直な連續溝を有し得る。サンプル反応バリア3の好ましい実施形態では、図1Aを参照すると、サンプルのフローに対して平行な溝1,2は、デバイスの1つの表面上に、他の表面からキャビラリーの距離、例えば0.02 mm～0.1 mm離れて取り込まれている。サンプル反応バリア3(図1A)を満たすサンプルの容量は、最小値、つまり反応チャンバ4の容量の約0.01%～1.0%に保つことで、反応チャンバ4の試薬が著しく拡散してサンプル追加リザーバ2中のサンプルへ戻らないようにしなければならない。つまり、反応混合物の過剰サンプルへの戻り拡散を最小限にして、反応混合物で起こる化学又は生化学反応がサンプル追加リザーバ2中の過剰サンプルによって実質的に影響されないようにすべきである。溝の深さは約0.01 mm～0.5 mm、好ましくは約0.05 mm～0.2 mmの範囲を取り得る。このエレメントに1つ以上の溝が使用されるとき、このエレメント内の溝数は典型的には1 cmあたり10～500個、好ましくは1 cmあたり20～200個である。サンプル追加リザーバ2由來のサンプルはキャビラリー作用によって溝1,2を流れ、反応チャンバ4へ入る。さらに好ましい実施形態では、以後「フィンガ(finger)」1,6と呼ばれる溝が、サンプル反応バリア3の溝1,2又はキャビラリースペースと流体接触している反応チャンバ4の壁面に位置している。このフィンガ1,6は典型的には幅0.5 mm～2 mm、好ましくは幅1 mm～1.5 mmであり、典型的には深さ0.1 mm～1.5 mm、好ましくは深さ約0.2～1 mmである。反応チャンバ4の壁面にあるフィンガ1,6は、サンプルの反応チャンバ4へのキャビラリーフローを助ける。つまり、このフィンガは、キャビラリー作用が比較的高いキャビラリーからキャビラリー作用が低いキャビラリーへ流体が移動することを可能にするのである。従って、このサンプル反応バリアでのキャビラリーは全般により狭く、反応チャンバのキャビラリー又はスペースよりも大きいキャビラリー作用を有する。キャビラリー作用におけるこの差異によって、デバイス中のサンプル又は流体のフローがサンプル反応バリアのキャビラリー

において停止され得る。恐らくは、フィンガは2つのキャビラリー又はスペースのインターフェースにおいて流体の表面張力を壊し、それによってキャビラリー作用がより低いキャビラリー又はスペースへ流体を移動させ得るのだろう。フィンガの有用性はキャビラリー作用の高いところから低いところへ流体が流れるべきデバイスの任意の部分に対して抜張し得ることが理解され得る。実際、流体フローの方向性が、狭いキャビラリー（より高いキャビラリー作用）からより広いキャビラリー（より低いキャビラリー作用）へという場合がそうである。

サンプル反応バリアの頂面はまたアッセイ法に使用される試薬を固定化するためにも使用され得るが、それでサンプルはサンプル反応バリア全体を流れ、試薬を溶かし、反応チャンバへ入るようになる。サンプル及び試薬の反応チャンバへの移動は混合手段として作用し得る。

反応チャンバ

図1を参照すれば、サンプルはサンプル反応バリア3から反応チャンバ4へ移動する。デバイス10の試薬は、好ましくは、例え乾燥又は凍結乾燥した粉末として反応チャンバ4に配置されるが、サンプルが反応チャンバ4に入ると、試薬はすぐに元に戻る。反応チャンバ4の容量は、反応混合物を規定するサンプルの容量である。反応チャンバ4は、例え頂部と底部の超音波圧縮によって両サイドを封止され得る。従って、デバイス10へのサンプルのデリバリーはサンプル追加ゾーンにおいて、反応混合物の容量を規定するための正確なピベット操作工程を必要としない。反応混合物を混合する反応機能はまた、米国特許出願連続番号711,621（1991年6月5日提出、現在放棄、参考文献として援用する）に記載されるように、反応チャンバ4とともに取り込まれ得る。サンプルはキャビラリー作用によって、また構造的には、サンプル追加リザーバ2内のサンプルによってもたらされる静水圧によって反応チャンバ4を満たす。

反応チャンバ4の表面は滑らかであるか又はポストや溝のようなテクスチャー構造で構成され得る。デバイス表面のテクスチャーはデバイスの製造時に表面における試薬の乾燥を促進し、反応チャンバ4へのサンプル移動を促進し得る。デバイス表面上のテクスチャーは以下のようにして乾燥された試薬の表面上の均一

配置を促進する：液体試薬を含む液体がテクスチャーのある表面に接触して配置され、小さな試薬液体メニスカスが相互に近接したテクスチャー構造を形成する。テクスチャーの存在がない場合、液体は全チャンバのコーナーでより大きなメニスカスを形成し、乾燥したときに、不均一な乾燥試薬の層を生成する。テクスチャ

ヤー構造がデバイスに設計されると、多くの小さなメニスカスがあるので、チャンバ全体で乾燥されるより均一な試薬の層ができる。

反応チャンバ4及びそれによる反応混合物の容積は、試薬を貯蔵しアッセイの所望の濃度を提供する任意の容量であり得る。反応チャンバ4の形状は、反応混合物の反応チャンバ4からの移動が乱れず、反応チャンバ4からのその移動の結果として渦流を形成しないようなものであるべきである。反応チャンバ4の好ましい形状が図1に示されている。反応チャンバ4の深さは、所望の反応混合物量を貯蔵するためにチャンバの幅と釣り合っているべきである。反応チャンバの深さは約0.05 mm～1.0 mm、好ましくは0.1 mm～0.6 mmの範囲であり得る。反応チャンバの特殊な容積を貯蔵するためには、反応チャンバの長さ及び幅を調整すべきであって、深さは狭い範囲で維持することが実践的である。反応チャンバ4はサンプル反応バリア3及び診断エレメント6又はタイムゲート5と直接液体で接触した状態にある。さらに、反応チャンバ4はまた、図1B及び図1Cに示されるように、選択的試薬リザーバ17と直接液体で接触し得る。

反応チャンバの好ましい実施形態は、反応チャンバの底面から診断エレメントの表面に広がる傾斜を利用して構成している。この傾斜は、液体がデバイスを移動するときに、反応チャンバと診断エレメントのインターフェースでサンプルと反応混合物が混合し、渦を形成することを最少化又は防止する。従って、この傾斜は、液体の反応チャンバからの及び診断エレメントへの滑らかな移行を可能にする。傾斜の長さは反応チャンバの各々の深さに応じて最適化されるべきだが、一般には傾斜は反応チャンバの底面に対して25～45°の角度である。

タイムゲート

図1Aを参照すると、タイムゲート5は反応チャンバ4中の反応混合物を一定

の時間保持する。タイムゲートのコンセプトは、主として水性の溶液が、十分に疎水性のゾーンを、その疎水性ゾーンが十分親水性になるまでは、通過し得ないということである。さらに、この疎水性ゾーンは、水性溶液の成分の疎水性ゾーンに対する結合によって親水性になる。一般にこの十分に疎水性のゾーンはキャビラリースペースの中にある。タイムゲートを通過する流体運動の推進力はスペ

ースのキャビラリー作用か又はサンブルによってもたらされる静水圧、又はその2つの力が結合したものであり得る。反応チャンバーに反応混合物を保持するのに必要な時間の量は、アッセイ法の結果として反応チャンバー内で起こる種々の反応がサンブル中の標的リガンドの存在又は量を反映するように、アッセイ法に関連している。従って、タイムゲート5は、反応混合物の診断エレメント6へのフローを遅延させる。タイムゲート5が反応混合物のフローを遅延させるのは、水性溶液又は少なくとも40の誘電率を有する溶液のような親水性の溶液がキャビラリーチャネルの十分疎水性のバリアを通過し得ないという原理による。タイムゲートを設計し組み立てるときには、滑らかか、溝があるか又はテクスチャーがある。未処理のプラスチック及びエラストマー（ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリアクリレート、シリコン・エラストマー等）に見出されるような疎水性表面又はシリコンチップ表面又は金属表面から開始することができ、キャビラリーは本来疎水性か親水性であり、滑らかか、溝があるか又はテクスチャーがあり得る。対向する表面によって形成される。キャビラリーの疎水性表面は、主として水性の溶液に通常溶けている成分が結合し得る微視的な表面エリアを有する。反応混合物中の成分の親水性と濃度、及びタイムゲートの全表面エリアがタイムゲートの機構に影響を及ぼす。タイムゲート5が反応混合物を保持する時間の量は、反応混合物由来の成分が疎水性のバリアに結合する速度に関連している。反応混合物由来の成分が結合すると、この疎水性バリアが十分親水性であるゾーンへ変化し、反応混合物が通過し得るようになる。十分親水性の表面ができると、あたかもタイムゲートがデバイスに無かったかのように、流体が流れれるようになる。従って、タイムゲートが一度親水性になると、デバイスの残部での流体フローは影響を受けなくなる。流体遅延の手段を取り込んでいる他のデ

バイスは、例えば米国特許第4, 426, 451号及び4, 963, 498号に記載されているが(参考文献として援用する)。流体フローをスタートさせるためにデバイスを外から操作することを必要とするか、又は流体フローを遅くするためにキャビラリーの狭窄を利用するだけである。後者の場合、流体フローを遅くするために使用されるキャビラリーの狭窄はデバイスの殻部全体の流体フローに影響を及ぼしてしまう。

例えば、好ましい実施形態では、タイムゲート5は、直徑約0.01μm～10μmのポリスチレンラテックスのようなラテックス粒子15(図1A、実寸通りではない)又はポリプロピレン、ポリエチレン、ポリエチルなどのような疎水性ポリマーから構成され得るが、これらは反応混合物が通過するべき適切なゾーンにあるデバイスへ導入される。別の好ましい実施形態では、タイムゲートは、インキや長鎖脂肪酸のような疎水性化学品又は疎水性デカールを所望のゾーンへ塗布することによって創製され得る。この疎水性化学品又はデカールは一般に反応混合物に溶けないかほとんど溶けない。また別の好ましい実施形態では、タイムゲートは親水性表面を疎水性表面に変えることによっても形成され得る。例えば、プラズマ処置によって親水性になった疎水性表面は、溶媒、紫外光又は熱といったものを適用することによって、疎水性表面へ復帰させ得る。これらの処置は、親水性の、プラズマで修飾された表面の分子構造を疎水性の形態へ変化させるように作用し得る。

疎水性ゾーンに結合する反応混合物中の成分は、様々なタンパク質、ポリペプチド、ポリマー又は洗浄剤であり得る。好ましいタンパク質はウシ血清アルブミンである。タイムゲート5によってもたらされる時間の遅延は、疎水性ゾーン、例えばラテックス粒子15によってもたらされる表面エリアに結合する反応混合物中の成分、例えばウシ血清アルブミンの濃度に依存している。タイムゲート5のもうひとつ的好ましい実施形態は、疎水性であって、緩衝キャパシティを有する反応混合物にさらすことによって親水性になる高分子電解質を利用している。タイムゲート5は、例えば、そのプロトン化された形態において親水性になるポリアクリル酸から構成され得る。反応混合物は、ポリアクリル酸のpK_a以上で

酸化されると、酸性基を脱プロトン化し、ポリマーの親水性塩を形成する。この場合、時間の遅延は高分子電解質の量及び反応混合物のpH及び緩衝キャパシティに関連している。

タイムゲートの幾何学的形状は、流体が通過するタイムゲートのエリアに影響し得る。つまり、タイムゲートは、タイムゲートの特定エリアを通過する液体のフローを指向するように設計され得る。タイムゲートの特定エリアを流体が通過するように指向することによって、時間遅延の再現性が改善される。図6は、タイム

ゲートの代表的な幾何学的形状を示す。例えば、図6のタイムゲートa～dに示されるように、タイムゲートはその設計にV形を取り込んでいて、より特定すれば、タイムゲートの長さ（タイムゲートを通過するために流体が越えるべき距離として定義される）は、Vの先端でタイムゲートの本体よりも少ない。従って、好ましい形状では、流体は長さが最も短いタイムゲートを超えてゆき、それによってタイムゲートを通過する流体フローを一定の方向に指向させる。一般に、タイムゲートを通過する流体フローの指向性は、図6の対向する矢印によって表現されている。好ましい実施形態では、図6のタイムゲートb、c及びdの指向性は、流体が最初にV形ではなくタイムゲートの平たい部分に触れるようなものである。換言すると、図6のタイムゲートb、c及びdに対する好ましいフローの方向は上向きの矢印によって表現されている。タイムゲートが例えば図6のタイムゲートe及びfに見られるように、単に直線である場合、タイムゲートを通過する流体フローの経路はタイムゲート上の任意の点で起こり得る。従って、タイムゲートの一定エリアを通過する流体フローを指向する幾何学的形状を有するタイムゲートが好ましいのである。例えば、約1.3mm～0.13mmの範囲の長さを有するタイムゲートは、表面間の距離が約0.018mmであるとき、各々約0.3分～5.5分の遅延時間を達成する。タイムゲートがV形状であるとき、V先端のタイムゲート4の長さはVの残りの部分のタイムゲートの長さよりも少ない範囲を有する、つまり、例えば図7のタイムゲートaが示すように、Vのアーム部分はV先端の長さの約2～5倍の長さを有する。図7のタイムゲートbは、タイムゲートの残りの部分に比較して、タイムゲートのごく小さなエリア

だけがV先端で超えられることを示す。このタイムゲートは、全流体面がタイムゲートと接触するように、キャビラリー又はスペースの幅に及ぶべきである。タイムゲートが、例えば診断エレメントほど広くないとすると、流体面はタイムゲートを通過してしまうだろう。従って、タイムゲートは遅延時間の間スペース内の流体を「封止」すべきなのである。

図1を参照すれば、当業者は、各デバイス10が1つ又はそれ以上のタイムゲートを取り込んでデバイスの所望される機能を達成し得ることを認め得る。図8は、図6のいくつかのタイムゲートの連続的な配置を示す。例えば、次節の「選

択性試薬リザーバ」で論じるように、このデバイスによって連続追加免疫アッセイが実施される場合、反応混合物が診断エレメントへ移動する前に、2つのタイムゲートによって2回の連続インキュベーション工程がこのデバイスによって実施され得る。別の実施例では、診断エレメント6の捕獲ゾーン上で反応混合物のインキュベーションが必要とされるならば、タイムゲートはこの捕獲ゾーンのすぐ後ろに配置されるだろう。このようなタイムゲートの使用が起こり得るのは、反応混合物中の成分の、診断エレメントの捕獲ゾーンに対する結合の低い効率が広がるような場合である。

タイムゲートの別の適用は、キャビラリースペースの部分ではない表面にタイムゲートを配置することを含む。例えば、タイムゲートは親水性の表面に配置され得るが、このことはキャビラリースペースが無くともそれだけで液体が移動することを可能にする。これは一般に、実質的な量の液体が表面に置かれ、それが表面張力とメニスカスを外へ押す液体の静水圧によって広がる場合に当てはまる。その場合、タイムゲート表面の静水圧性が液体の動きを止めるので、タイムゲートは液体面の前進を遅延するように機能する。前進する液体のメニスカスがタイムゲートに接触すると、液体中の成分がタイムゲートに結合し、液体が表面を離続的に前進する間、十分親水性の表面を創出する。

また別のタイムゲートに関する実施形態は、連結体又は受容体を捕獲するために使用される膜より前にタイムゲートを位置付けることを含む。タイムゲートに関するまた別の実施形態では、タイムゲートは膜の疎水性表面から構成され得る

。そのような場合、疎水性の膜は、連結体又は受容体を捕捉する膜部分より前に位置付けられ、アッセイ試薬が置かれる又は埋め込まれ、試薬が一定の時間インキュベートされる反応チャンバ又は膜の一部の後に位置付けられ得る。膜内のタイムゲートは、約0.01%~10%の適切な液体濃度で未加工のラテックス粒子を膜に散布することによって形成され得る。ラテックス粒子のサイズは、ラテックスが膜内に埋めこまれるために、膜の空孔サイズよりもやや小さくすべきである。タイムゲートにおける膜内ラテックスの密度は、反応混合物がタイムゲートを迂回しないようにするために、均一とすべきである。例えば、空孔サイズが1μMの膜にタイムゲートを創出するために使用されるラテックスのサイズは、0.

0.5~0.2μMの範囲であり得る。膜空孔のサイズ分布は大きく変化するので、実際に使用するラテックスのサイズは実験によって決定されなければならない。タイムゲートのために使用される膜の疎水性はまたプラズマ処置又は膜に吸着する疎水性化学品又はポリマーで膜を処置することによって形成され得る。当業者は、タイムゲートの発明力ある特徴について本明細書で記載される教示が膜を利用する多種多様な診断デバイスにおいてタイムゲートを設計するために利用され得ることを理解されよう。つまり、例えば、参考文献として援用する米国特許第4,435,504号、4,727,019号、4,857,453号、4,877,586号及び4,916,056号に記載されたデバイスは、例えば膜より前に又は連結体又は受容体を捕捉する膜の中にタイムゲートを取り込み得る。

選択的試薬リザーバ

図1 B及び1 Cを参照すれば、選択的試薬リザーバ17は試薬をアッセイ法へ導入するために有用である。一般に、選択的試薬リザーバ17は、サンプル反応バリア3又は反応チャンバ4の入口孔又は診断エレメント6を介してサンプル追加リザーバ2と直接流体で接触し得る。例えば、図1 Bは、反応チャンバ4と直接流体で接触している選択的試薬リザーバ17を示す。導入される試薬のフローはタイムゲート5aによって制御され、フィンガ16は試薬が反応チャンバ4へ

移動するのを助け得る。次に図1-Cを参照すれば、例えばこのデバイスによって連続追加免疫アッセイが実施される場合、2つのタイムゲート5と5 a及びフィンガ1-6は、試薬が反応チャンバ4へ移動するのを助け得る。次に図1-Cを参照すれば、例えばこのデバイスによって連続追加免疫アッセイが実施される場合、反応混合物が診断エレメント6へ移動する前に、2つのタイムゲート5と5 aによって2回の連続インキュベーション工程がこのデバイスの選択的試薬リザーバー1-7において、次いで反応チャンバ4において、実施され得る。つまり、サンプルはサンプル追加ゾーン1を介してサンプル追加リザーバ2へ展開され、サンプルはサンプル反応バリア3全体を流れ、最初の反応セットが起こる場合、フィンガ1-6の助けによって選択的試薬リザーバー1-7へ流れてゆく。タイムゲート5 aは、適切な時間の後に、試薬がサンプル反応バリア3 a全体を流れ、次の反応セ

ットが起こる場合、フィンガ1-6の助けによって反応チャンバ4へ流れてゆくことを可能にする。適切な時間の後、タイムゲート5は反応混合物の診断エレメント6へのフローを可能にする。

流体制御手段

図1-Dを参照すれば、選択的な流体制御手段1-8は、反応混合物のデバイス内フローを制御するように設計されている。より特徴すると、選択的な流体制御手段1-8は、捕獲ゾーンにおける試薬の最適捕獲を可能にする速度で一定量の反応混合物が診断エレメント6の捕獲ゾーンを流れるようにする。一定量の反応混合物が捕獲ゾーンを流れた後で、過剰な試薬のフロー速度を上昇し得る。デバイス内の試薬フロー速度を変化させることは、診断エレメント6のキャビラリースペース1-9の表面間にあるギャップ1-8を設計することによって達成される。ギャップ1-8のサイズは診断エレメント6のキャビラリースペース1-9より大きい。一般にギャップ1-8は、捕獲ゾーン又はフロー速度を落とすことが求められるゾーンの後に続く。従って、診断エレメント6のギャップ1-8は、ある関連した容量を有する。反応混合物がデバイスを移動するとき、ギャップ1-8の容量は、キャビラリー作用によってそれで満たされる。捕獲ゾーンの後にあるギャップ1-8が診断エレメント6のキャビラリースペース1-9よりも大きいので、ギャップ1

8の開始部分でキャビラリーの圧力が低下すると、反応混合物のギャップ18へのフロー速度の減少及びそれによる反応混合物の捕獲ゾーン全体へのフロー速度の減少をもたらす。ギャップ18のサイズを変化させると、ギャップ内のキャビラリー作用が変化し、そのために反応混合物の捕獲ゾーンへのフローが変化する。診断エレメント6から非結合試薬を除去する洗浄工程を必要とする免疫アッセイの場合、洗浄溶液が診断エレメント6を流れる速度は、反応混合物が診断エレメント6を流れる速度より速いことが望まれるが、これはそのことによってアッセイ時間が減少するからである。ギャップの形状は多くの形態を取り得る。図1Dに示されるように、ギャップは直線で挟まれた角を有するが、ギャップは台形又は三角形として成形され得て、それによって反応混合物がギャップに流入するときのフロー速度を変化させ得る。当業者はまたある種の免疫アッセイには洗浄工程が不要であることを理解されよう。

試薬のデバイス内フロー速度を制御することはまた、試薬の反応程度がモニターアれるか又はさらに反応が起こり得るデバイスの測定エリアへ試薬が移動する前に、デバイスのあるゾーンで化学反応が起こることを可能にするためにも使用され得る。例えば、試薬の連続追加及びインキュベーションが必要である免疫アッセイに使用するデバイスにはいくつかの液体制御手段が組み込まれ得る。つまり、サンプルが第一の試薬に接触すると、サンプルと第一の試薬の反応時間が第一ギャップによって制御される。この第一ギャップが液体で満たされると、反応混合物は次の化学反応が連続して起こり得るときに第二の試薬へ続く。この第二反応の終了に必要な時間はまた、反応混合物が診断エレメントへさらに流れないうちに第二ギャップによって制御され得る。また、化学及び生化学反応は、ギャップ容量の中で、例えば、ギャップ内の固定化している試薬によって起こる。

診断エレメント

図1及び2を参照すれば、診断エレメント6はキャビラリーの隔壁だけ離れた対向する表面によって形成され、反応混合物はそこを流れ、1つ又はそれ以上の捕獲ゾーンがそこに配置されている。捕獲ゾーンは、受容体のような試薬又は、

反応混合物の1つ又はそれ以上の成分と結合又は反応するバイオセンサーのようなデバイスからなる。反応混合物由来の試薬の、診断エレメント6の構成ゾーンに対する結合はサンプル中の標的リガンドの存在又は量に関係している。1つ又はそれ以上の受容体又はバイオセンサーが1つ又はそれ以上の標的リガンドの存在又は量を決定するために診断エレメント6上に配置され得る。受容体又はバイオセンサーは診断エレメント6の独立したゾーンに配置され得るか、又はそれらは表面全体に均一又は不均一に分布され得る。受容体又は他の化学試薬、例えば、反応混合物の試薬に活性があること及び反応混合物が受容体又はバイオセンサーのゾーンを通過したことをユーザーに証明するために、シグナル発生体に対する受容体はまた診断エレメント6上に固定化され得る。反応混合物が診断エレメント6を貢献するときに反応混合物由来の成分がクロマトグラフィーの形式で診断エレメント6の表面に結合するように、単一の受容体又はバイオセンサーが診断

エレメント6の大部分に配置され得る。従って、反応混合物の成分が結合する距離は、サンプル中の標的リガンドの濃度に関連するだろう。受容体のような試薬は、共有結合又は吸着を介して診断エレメント6の表面に固定化される。好ましい実施形態は、例えば受容体でコートされた直徑約0.1 μm～5 μmのラテックス粒子を固定化することである。さらに、「ナノ粒子」と呼ばれる微粒子も受容体でコートされ得て、得られたナノ粒子を吸着又は共有結合を介して診断エレメントに固定化することができる。ナノ粒子は一般に、シリカ、ジルコニア、アルミナ、チタニア、セリア、金属コロイド及びポリスチレン等よりなり、この粒子サイズは約1 nm～1 000 nmに及ぶ。ナノ粒子を使用することの利点は、固体含量の関数としてナノ粒子をコートするタンパク質の表面積が、より大きなラテックス粒子に比べて劇的に増大することである。

診断エレメント6の表面は、受容体でコートしたナノ粒子又はラテックス粒子が診断エレメント6に結合することを可能にするだろう。好ましい実施形態では、受容体は、静電的、水素結合及び/又は疎水性相互作用を介して診断エレメントの表面に結合する。静電的、水素結合及び/又は疎水性相互作用については、

例えば、*Biochemistry* 20, 3096 (1981) 及び *Biochemistry* 29, 7133 (1990) で論じられている。診断エレメント6は、例えば表面にカルボン酸基を発生させるために、プラズマ処置され得る。受容体でコートしたラテックス粒子は、好ましくは、例えば1~20 mM及び受容体の等電点よりも低いpHの低濃度溶液で、診断エレメント6に適用される。従って、診断エレメント6上のカルボン酸基の陰電荷と受容体ラテックスの陽電荷によって、診断エレメント6上のラテックスの静電気的安定化が増強される。水素結合と疎水性相互作用もまた恐らくは受容体ラテックスの安定化と診断エレメント6への結合に貢献するだろう。磁場に引きつけられる粒子を固定化するには、磁場もまた使用され得る。

図5を参照すると、診断エレメントに関する追加的な実施形態では、診断エレメント6は溝から構成され得る柱状の表面である。診断エレメントが溝からなるとき、溝は概して反応混合物のフローに対して垂直になる。キャビラリースペースは、概して透明である円管によって診断エレメントの周囲に形成され、従って

診断エレメントの表面と対向する管の表面はキャビラリーの距離だけ離れる。形成されたキャビラリーは、反応混合物が円柱の診断エレメント6を流れることを可能にする。一般に、反応混合物は柱状のキャビラリースペースを重力に対抗して又は重力に一致して上下に移動する。円柱の診断エレメント6の捕獲ゾーンは、診断エレメント6の独立したゾーンか又はその全長にわたって配置され得る。捕獲ゾーンはまた、診断エレメント6の直径円を描くか又は診断エレメント6の半径にのみ適用され得る。反応混合物は管8を介して診断エレメント6ヘテリバリーされ得る。さらに、管8の柱状の容量は反応チャンバーとして使用され、周辺に溝を有する円盤形のサンプル反応バリア3はまた、反応チャンバー及びサンプル追加リザーバ2を形成するために挿入され得る。この議論から、図1及び2を参照すると、当業者は、曲率が円の半径になるように、滑らかな診断エレメント6を曲げ得ることも理解されよう。

診断エレメントの捕獲ゾーンでのシグナル検出のために様々な手段が使用され

得ることを当業者は理解し得る。例えば圧電性結晶のようなバイオセンサーを使用する場合、受容体が固定化され得る圧電性結晶が捕獲ゾーンとなり、標的リガンドを結合することによって生じる反応は概して電気シグナルによって反映されるだろう。他のタイプの検出手段は、限定しないが、分光光度法や反射法のような視覚や機器による手段を含む。本明細書に記載する診断エレメントの発明力ある特徴は、反応混合物が流れる表面において捕獲効率を改善すること、及び当業者によって様々な検出手段が使用され得ることを考慮している。

デバイス中のキャビラリーの表面は概して親水性で、サンプル及び反応混合物のデバイス内貫流を可能にする。好ましい実施形態では、診断エレメント6に対向する表面は疎水性であり、反応混合物はこの表面で反発する。診断エレメント6の対向表面に対する反応混合物の反発は、反応混合物、特にタンパク質連結体を捕獲の起こる表面へ動かし、それによって反応混合物の成分の捕獲ゾーンに対する捕獲効率が改善する。診断エレメントに対向する疎水性表面は、反応混合物が診断エレメントを通過するにつれて親水性になる傾向を有するが、これはサンプル又は反応混合物の中に内因的又は外因的に存在し得る、例えばタンパク質やポリマーのような、様々な成分が疎水性表面に結合するためである。診断エレメントに対向する好ましい疎水性表面は、テフロン（登録商標）から構成され得る。当業者にはテフロン（登録商標）表面にはタンパク質がほとんど結合しないことが知られている。従って、診断エレメントに対向するテフロン（登録商標）表面は、反応混合物が診断エレメントを貫流するとき、例えばポリスチレン、ポリアクリレート、ポリカーボネート等より構成される表面ほどは、親水性にならないだろう。

別の好ましい実施形態では、診断エレメント6は親水性だが、診断エレメント6に隣接するエリアは疎水性であり、アッセイの試薬が診断エレメントの親水性領域だけを通過するように指向されている。当業者は、診断エレメントを規定するために疎水性吸着剤を親水性の表面へ処置すること又は塗布すること、又はオイルやグリースのような高粘度の疎水性化合物を使用することに由来する診断エレメント以外に、表面を遮蔽するマスクを使用してプラズマ処置するような、親

水性の診断エレメント又はゾーンを規定するための様々な技術が使用され得ることを認めるだろう。別の好ましい実施形態では、診断エレメントのキャビラリーは超音波溶接によって形成され得る。診断エレメントの境界は、超音波加熱された溶接部を形成するために使用されるエネルギー・ディレクタによって決定される。

診断エレメント 6 又はデバイスの他の部品の表面は、滑らかであるか、溝があるか、又は溝があつて滑らかである。様々なテクスチャー表面も、単独で又は滑らかか溝のある表面と組み合わせて利用され得る。例えば、出っ張りと書われる、ボスト、溝、ピラミッド等からなる表面や、窪みと書われる、穴、スロット、ワッフル・パターん等からなる表面が利用され得る。図 9 を参照すれば、表面は、菱形、六角形、八角形、長方形、正方形、円、半円、三角形又は梢円の形状を含むテクスチャー構造を含み得る。テクスチャー表面は、列状、ジグザグ状又は完全にランダムな幾何学图形のテクスチャー構造を含み得るが、様々な幾何学图形を組み合わせて所望の表面特性を產生し得る。典型的には、テクスチャー表面の窪み又は出っ張りは約 1 nm ~ 0.5 mm の範囲であり、好ましくは約 10 nm ~ 0.3 mm の範囲であり、様々な窪み又は出っ張り間の距離は約 1 nm ~ 0.5 mm の範囲であり、好ましくは約 2 nm ~ 0.3 mm の範囲である。

診断エレメント 6 の表面は滑らかであるか又はボストや溝のようなテクスチャー構造から構成され得る。デバイス表面のテクスチャーは、デバイス製造時に表面における試薬の乾燥を促進し、サンプルの診断エレメント内移動を促進し得る。デバイス表面上のテクスチャーは以下のようにして乾燥された試薬の表面上の均一配置を促進する：液体試薬を含む液体がテクスチャーのある表面に接触して配置され、小さな試薬液体メニスカスが相互に近接したテクスチャー構造を形成する。テクスチャーの存在がない場合、液体は全表面又はチャンバのコーナーでより大きなメニスカスを形成し、乾燥したときに、不均一な乾燥試薬の層を生成する。テクスチャー構造がデバイスに設計されると、多くの小さなメニスカスがあることで、表面又はチャンバ全体で乾燥されるより均一な試薬の層ができる。

図 1 及び 2 に示される好ましい形態では、診断エレメント 6 の 1 つの表面は溝

であり、この溝は反応混合物のフローに対して垂直であり、その対向表面は滑らかである。別の実施形態では、診断エレメント6の1つの表面は捕獲ゾーンにおいて溝であり、この捕獲ゾーンに近接したエリアは滑らかである。診断エレメント6の対向表面は滑らかであるか溝であり得るが、例えば各表面の溝が噛み合ってもよい。診断エレメントの溝を反応混合物のフローに対して垂直に配置することの利点は、診断エレメント6への反応混合物の貫流が、キャビラリースペース内の溝によって規定される、明瞭で直線的な面を作り秩序だったやり方で起こることにある。

また、1つの表面が、溝頂部に対してごく接近している（例えば、1μm～100μmの距離）場合、反応混合物由来成分の捕獲効率は増大され得る。滑らかな表面エレメントに比較して溝のある診断エレメントの捕獲ゾーンで捕獲効率が増大することは、キャビラリースペースにおける反応混合物の動きと関連している可能性がある。つまり、溝表面の場合、反応混合物は溝の頂部を越えて次の溝の溝へ移ることを強いられる。従って、より繊細な溝表面、つまり1cmあたりの溝がより多い表面は、溝の少ない表面に優る捕獲効率を提供するだろう。従って、反応混合物は、両面が滑らかである場合よりも、溝のある診断エレメントにおいて、より表面に近づいて動かされる。

また、表面が近接していると、診断エレメント表面上の反応混合物の量を減らし、それ故、診断エレメントに結合する成分の接触距離を減らすことになる。診断エレメント表面の近接性は、エレメント全体のキャビラリーフローを妨害することなく、捕獲ゾーンにおける診断エレメント内の反応混合物量を最少化するはずである。さらに、デバイス表面においてある試薬が乾燥され、別の試薬が別のデバイス表面で乾燥される実施形態では、これらの試薬は、液体がそれらの表面に導入されると、そのそれぞれの表面から拡散し得る。試薬が固定化されている表面は、デバイスの特殊なチャンバ内の表面であるか又はデバイスの様々な領域の表面であり得る。この領域は、別個のチャンバであるか又はチャンバの範囲を規定しないデバイス表面であり得る。

例、標的リガンド複合体の捕獲：リガンド受容体連結体は、表面の近接性が最

適化されていれば、捕獲ゾーンで100%の効率に近づく。標的リガンドによって結合されるリガンド受容体連結体のはとんどすべての捕獲が最も所望されるのは、サンプル量の関数としてアッセイのより高い感度が達成され得るからである。捕獲効率が向上していることの他の利点は、サンプル量が減少しているためにより少ない試薬が使用されること、このより少ないサンプル量のためにアッセイデバイスがミニチュア化され得ること、及び捕獲ゾーンを貫流する反応混合物のフロー速度が変化しても標識連結体の捕獲にはごくわずか又はほとんど影響しないので、アッセイ結果の再現性が向上すること、である。

キャビラリースペースは、例えば表面を適切な許容誤差で機械処理すること又は表面間にシムを使用することといった、様々なやり方で規定され得る。好ましい実施形態では、表面の超音波溶接がキャビラリーを規定する。この場合、キャビラリースペースはエネルギー・ディレクタによって規定され、表面間の距離はエネルギー・ディレクタのサイズ、溶接エネルギー、エネルギーの適用時間及び溶接時の加圧の関数となる。診断エレメントの表面は平行又は非平行であり得る。後者の場合、診断エレメントを通過する試薬のフロー速度はその長さ全体で一様にはならない。好ましい実施形態は、診断エレメントの表面をほぼ平行に維持することである。診断エレメントの表面は、混練又は射出成形され得るポリスチレン、ポリカーボネート又はポリアクリレート等のプラスチック、又は、J. A. m. Chem. Soc. 1992, 114, 1990~1995及びその引用文献に

記載されるような様々な鋼のアルケンチオールが表面される鋼、鉛及び金のフィルム表皮のような材料から製造され得る。後者の例では、マレイミド又はアルキル塩化物の基を結合し、標的リガンドの存在又は量を決定するための反応混合物由来の成分を結合するために使用されるタンパク質、受容体又は様々な分子又は生物分子を共有結合的に固定化するために外側に配向されるチオール基が使用され得る。

図3 A及び3 Bを参照すると、1つ又はそれ以上の受容体の固定化ゾーン又は診断エレメント6上の捕獲ゾーン17におけるバイオセンサーの配置は、様々な

形態を取り得る。例えば、標的リガンドのサンプル内濃度が低い場合、一定量の反応混合物から最高のシグナルを得るために、反応混合物のすべてが固定化された受容体又はバイオセンサーのゾーンを通過することが望まれる。この場合、診断エレメント6の捕捉ゾーン17における受容体又はバイオセンサーの配置は、例えば図3Aに示されるものと同様であり得る。標的リガンドのサンプル内濃度が高く、分析法の感度が問題にならない場合、捕捉ゾーン17における受容体又はバイオセンサーの配置は、例えば図3Bに示されるものと同様であり得る。診断エレメント上の受容体又はバイオセンサーの配置が分析法の感度要求性の関数となることを当業者は理解されよう。

1つ又はそれ以上の診断エレメントがデバイス内に構成され得る。反応混合物は複数の診断エレメントを有するデバイスに適用され得る。さらに、サンプルをそのデバイスへ適用し、次いで、各々別々の診断エレメントをもった別々の反応チャンバーへ分離してもよい。捕捉ゾーンは、サンプルが標的リガンドに対して陽性か又は陰性であるときに1つのコードを表示するために、様々な幾何学的シンボル又は文字であり得る。当業者は、本発明のエレメントの有用な組み合わせを認めるであろう。

診断エレメントは、例えば、本明細書に参考文献としてのみ援用する、Clinical Chemistry (1993) 39, 619~624, に記載されるように、半定量的又は定量的アッセイを実施するためにも配置され得る。このフォーマットは固相膜上の抗原及び抗原ラベルの競合的な結合を利用する。改良点は、上記の方法に対して本明細書に記載する診断エレメントを使用することで、より少ないサンプル量で済み、固相表面に対する結合効率が向上する、ということである。

キャビラリー以外の診断エレメント

タンパク質の吸着、特に受容体のプラスチック表面に対する吸着に関して本明細書に記載された発明力ある教示は、キャビラリーの一部ではない多くのプラスチック表面に対する受容体の吸着に対して利用され得る。受容体でコートされたナノ粒子及びラテックス粒子は、「ディップスティック」又は蓋無しデバイスのよ

うな多くのタイプの免疫アッセイデバイスの表面へも適用され得る。例えば、ディップスティックは、アッセイ法の結果として、例えばリガンド受容体連結体が結合している固相である。ディップスティックは通常膜を取り込むが、ディップスティックに膜を使用することの欠点は、非結合性のリガンド受容体を膜から洗浄することが困難なことである。従って、ディップスティックの使用における改良は、受容体でコートしたラテックス又はナノ粒子をディップスティックのプラスチック表面に直接固定化することである。従って、非結合性のリガンド連結体をプラスチック表面から除去することは、膜からの除去よりも効率的である。

本明細書に開示されるようなテクスチャーモードはキャビラリー以外の診断エレメントにも使用され得る。そのような実施形態では、テクスチャーモードは追加的な表面エリアを提供することに役立ち得るが、それによって、より高密度のアッセイ試薬がそこに固定されるようになる。さらに、テクスチャーモード又は他の表面修飾は、表面上又は内部における流体のフロー特性に影響を及ぼすために提供され得る。例えば、本明細書に記載されるように、表面に疎水性領域が与えられこの疎水性領域における流体フローの量を減少させ得る、乾燥された試薬の表面上のより均一な分布をもたらすテクスチャーモードが使用され得る、流体フロー面でメニスカスの配向性を修飾するようにテクスチャーモードが提供され得る、また、表面内部の流体移動の推進力をキャビラリーにもたらすテクスチャーモードが使用され得る、といったことである。

使用済み試薬リザーバ

図1及び2を参照すれば、使用済み試薬リザーバ7は、診断エレメント6からの反応副産物、他の試薬及び過剰サンプルを受け取る。使用済み試薬リザーバ7の容量は、デバイスに加えられる又はその中に存在するサンプル及び余剰試薬の量と少なくとも同じである。使用済み試薬リザーバ7は、ニトロセルロースの吸収性材料のような吸収剤、多孔性のポリエチレン又はポリプロピレン等を使用して様々な形態を取り得るし、また使用済み試薬リザーバは連続したキャビラリー構から構成され得る。使用済み試薬リザーバ7に溝を使用する場合、キャビラリー溝は様々なキャビラリー圧を有するように設計され、試薬をデバイスから引き

付けたり、試薬がキャビラリーの引っ張り力が無くとも受け取られ、試薬がデバイス内を逆流しないようにすることができる。溝キャビラリーのサイズ及び量が使用済み試薬リザーバ7の容量及びキャビラリー作用を決定する。図4に示されるような好ましい実施形態では、診断エレメント6の末端にあるフィンガ52はキャビラリースペース55と流体接触していて、キャビラリースペース55は溝又はテクスチャ―のあるキャビラリースペース56と流体接触している。溝又はテクスチャ―表面の長さは、例えば、約0.1mm～0.6mm、好ましくは約0.3mm～0.5mmであり、その密度は1cmあたり約5～75溝で、好ましくは1cmあたり約10～50溝である。

図4を参照すれば、デバイスの試薬は、診断エレメント61の末端にあるフィンガ52へ移動し、さらにキャビラリーチャネル55の中へ移動する。試薬は、部分的に又は完全にキャビラリースペース55を満たし、次いで溝又はテクスチャ―表面56と接触するようになる。キャビラリースペース55の幅は通常約1mm～3mmであり、深さは通常約0.1mm～2mmである。キャビラリースペース55の長さは、溝又はテクスチャ―表面56と流体で接触できるほど十分でなければならない。溝又はテクスチャ―表面56は、診断エレメント51からキャビラリースペース55への試薬のデリバリー速度に依存して、部分的又は完全に試薬をキャビラリーチャネル55から引き付ける。試薬のフローがデバイス内で完了すると、溝又はテクスチャ―表面56は、キャビラリーチャネル55よりも大きいキャビラリー作用を有し、試薬は溝又はテクスチャ―表面56によってキャビラリーチャネル55から除去される。さらに、溝又はテクスチャ―表面

からの試薬の逆流が好ましくないのは、溝又はテクスチャ―表面56におけるキャビラリー作用が試薬を保持し、その逆流を防ぐからである。上記の発明力ある特徴から、このデバイス内の溝又は使用済み試薬リザーバの配置が所望される多様な目的に適用され得ることを当業者は認め得る。

1工程アッセイデバイスの記載

個別に記載してきた本デバイスのエレメントは、所望の機能を達成するために様々なやり方で組み立てができる。「1工程」という用語は、アッセイ結

果を達成するために1回の手動作が必要とされることを意味し、例えば、サンプルをデバイスに追加することが1工程である。一定時間の試験インキュベーションと洗浄工程を両方含む1工程アッセイを実施するデバイスの場合、過剰サンプルが洗浄溶液となり、図1に示されるように、サンプル追加リザーバ、サンプル反応バリア、反応チャンバ、タイムゲート、診断エレメント及び使用済み試験リザーバを使用し、液体でつながったこれらのエレメントでアッセイデバイスを組み立てる。デバイスは通常、長さ約3cm～10cm、幅1cm～4cm、厚さ約2mm～15mmである。典型的には、滑らかな表面の頂部が、上記エレメントが組み立てられる表面を有する底部の上に配置される。全エレメントの間連性が図1に示されている。アッセイを実施するのに必要とされる試薬は各々のエレメントの中に固定化又は配置される。表面はキャビラリーの距離だけ離れて一緒にされ、そのとき、サンプル追加リザーバ、サンプル反応バリア、反応チャンバ、タイムゲート、診断エレメント、ギャップ及び使用済み試験リザーバの領域はすべて整列され、一緒に機能することが可能になる。また、表面が一緒になることで、対向表面が接触し、サンプル追加リザーバ、反応チャンバ及び使用済み試験リザーバを形成し封止するようになる。

1つ又はそれ以上の標的リガンドに対して定性的、非競合的アッセイを実施するとき、例えば、金又はセレンイウム・ゾルのようなコロイド金属に吸着した標的リガンドに特異的な受容体を含むシグナル発生試薬は、乾燥又は凍結乾燥した形態でサンプル反応バリア又は反応チャンバに配置される。各標的リガンドに対する別の受容体は診断エレメントの捕獲ゾーンの表面に固定化される。タイムゲートは、例えば界面活性剤フリーのポリスチレン懸濁液を、所望のインキュベーション時間を規定する量でデバイスの上に配置することによって、通常反応チャンバと捕獲ゾーンの間の診断エレメント上に配置される。インキュベーション時間は普通実質的な平衡結合に達する反応時間量である。アッセイは、デバイスのサンプル追加リザーバにサンプルを追加することによって実施される。サンプルはサンプル反応バリアを越え、フィンガの助けによって反応チャンバに入り、反応チャンバで試薬を溶かして反応混合物を形成する。反応混合物はタイムゲートに

トは、例えば界面活性剤フリーのポリスチレン懸濁液を、所望のインキュベーション時間を規定する量でデバイスの上に配置することによって、通常反応チャンバと捕獲ゾーンの間の診断エレメント上に配置される。インキュベーション時間は普通実質的な平衡結合に達する反応時間量である。アッセイは、デバイスのサンプル追加リザーバにサンプルを追加することによって実施される。サンプルはサンプル反応バリアを越え、フィンガの助けによって反応チャンバに入り、反応チャンバで試薬を溶かして反応混合物を形成する。反応混合物はタイムゲートに

よって決定される時間の間インキュベートされる。サンプル追加リザーバに残る過剰サンプル及び反応チャンバ内の反応混合物は液体でつながってはいるが、サンプル反応バリアのために、化学的には実質的につながっていない。従って、反応チャンバが反応混合物の容量を規定する。反応混合物はタイムゲートから、診断エレメント上及び捕獲ゾーンを通過する。反応混合物内に形成される受容体連続体と標的リガンドの複合体は、反応混合物が捕獲ゾーン全体を流れるとき、捕獲ゾーンの各受容体と結合する。反応混合物はまた陽性対照のゾーンを通過してもよいが、これは例えばシグナル発生エレメントに対する固定化受容体であり得る。反応混合物が診断エレメントを通過して、フィンガの助けによって使用済み試験リザーバへ流入するとき、過剰サンプルは反応混合物の後を流れ、通常は反応混合物と実質的には混ざらない。過剰サンプルは診断エレメント上を移動し、捕獲ゾーンに結合しなかった受容体連続体を除去する。十分な過剰サンプルが診断エレメントを洗浄すると、捕獲ゾーンでのシグナルは視覚的に又は機器によって解読され得る。図1Dを参照すれば、上記記載の好ましい形態では、反応混合物は診断エレメント6の捕獲ゾーンを通過し、次いで反応混合物はキャビラリーギャップ18へ進む。キャビラリーギャップ18は通常診断エレメント6よりも小さいキャビラリー作用を有する。診断エレメント6のキャビラリースペース19は、通常ギャップ18のキャビラリースペースよりも小さい。キャビラリーギャップ18の容量は、通常反応混合物の容量にはば等しく、そのために、キャビラリーギャップ18はゆっくりと反応混合物で満たされ、一度満たされると、診断エレメント6又は使用済み試験リザーバの残り部分のキャビラリー作用がギャップ18のキャビラリー作用より大きくなり。その結果、診断エレメント6を洗浄するフローの速度が増加する。当業者が理解し得るように、ギャップ18は頂部8又は底部9又は頂部8及び底部9の両方の組み合わせにおいて形成され得る。

定時のインキュベーション工程を含まないが洗浄溶液が過剰サンプルである洗浄工程は含むという1工程アッセイを実施するデバイスの場合、アッセイデバイスは、サンプル追加リザーバ、サンプル反応バリア、反応チャンバ、診断エレメ

ント及び使用済み試薬リザーバを使用し、流体でつながったエレメントで組み立てられる。アッセイ試薬は、非競合的定性アッセイに対して上記で記載されたように使用される。このタイムゲートのないアッセイデバイスは、インキュベーション時間を拡張することなく反応混合物が診断エレメント上を流れることを可能にする。反応混合物及び過剰サンプルのキャピラリーフローは上記の通りである。

追加的なアッセイ試薬を反応混合物の中へ又は後に導入する、又は反応混合物の後にデバイスを流れる洗浄浴液を導入する、といった1工程アッセイを実施するデバイスの場合は、選択的試薬リザーバがデバイスに取り込まれる。選択的試薬リザーバはデバイスの任意のエレメントと流体接触してよく、通常は反応チャンバと流体接触している。例えば反応チャンバと流体接触しているとき、選択的試薬リザーバ及び反応チャンバはタイムゲートによって分離され得る。洗浄工程用の洗剤又は反応混合物の後に診断エレメントへ連続的に提供される試薬のような、様々な試薬が選択的試薬リザーバの中で乾燥又は凍結乾燥される。

1工程の非競合的定性アッセイを実施する場合、非競合的定性アッセイに対してすでに記載したような試薬が適用され得る。デバイスは、サンプル追加リザーバ、サンプル複数バリア、反応チャンバ、タイムゲート、診断エレメント及び使用済み試薬リザーバといったエレメントからなる。この場合、診断エレメントの捕獲ゾーンは通常診断エレメント全体になる。つまり、捕獲ゾーンは受容体連結体が結合する診断エレメントの長さになる。受容体連結体は、捕獲ゾーンの長さに沿って、サンプル中の標的リガンドの量に比例して結合する。別のやり方では、1つ又はそれ以上の捕獲ゾーン1/7が診断レーン上に配置され(図3A-B)、捕獲ゾーンからのシグナルは、CCDカメラ、蛍光計又は分光光度計のような機器によって読み取られる。

本発明のデバイスがこの定性アッセイに対して好ましいのは、試薬の捕獲、例えば、標的リガンドと受容体連結体の複合体の、捕獲ゾーン上に固定化された標的リガンド受容体に対する結合の効率性が高いためであり、そして、反応混合物の診断エレメント上の移動が緩い面で進行するためである。捕獲ゾーン上の受容

体は、反応混合物が捕捉ゾーンの長さにわたって移動するにつれて、標的リガンドと受容体連結体の複合体で次々と飽和されるようになる。従って、結合した連結体を含む診断エレメントの長さによって標的リガンドの濃度が決定される。当業者は、このタイプの免疫アッセイのフォーマットを、米国特許第4, 883, 688号及び4, 945, 205号（参考文献として援用する）に論じられていて、定量化的免疫クロマトグラフィーアッセイとして認めるだろう。

定期の試薬インキュベーション及び洗浄工程を両方含み、洗浄溶液が過剰サンプルである、1工程の定量化又は定性的結合アッセイを実施するデバイスの場合、アッセイデバイスは、サンプル追加リザーバ、サンプル反応バリア、反応チャンバ、タイムゲート、診断エレメント及び使用済み試薬リザーバを使用し、流体でつながったこれらのエレメントで組み立てられる。1つ又はそれ以上の標的リガンドに対する定性的結合アッセイを実施するとき、連結体は、例えば、金やセレンイウム・ゾルのようなシグナル発生エレメントに結合したりガンド類似体からなる。この連結体と各標的リガンドの受容体は、例えば参考文献として援用する米国特許第5, 028, 535号及び5, 080, 391号によって教示される様を、乾燥又は凍結乾燥した形態で、反応チャンバに配置する。各標的リガンドに対する別の受容体は診断エレメントの捕捉ゾーンの表面に固定化される。タイムゲートは、すでに記載したように、通常反応チャンバと捕捉ゾーンの間の診断エレメント上に配置される。インキュベーション時間は反応が実質的な平衡結合に達する時間量である。

アッセイは、デバイスのサンプル追加リザーバにサンプルを追加することによって実施される。サンプルはサンプル反応バリアを越え、反応チャンバに入り、試薬を溶かして反応混合物を形成し、タイムゲートによって決定される時間の間インキュベートされる。過剰サンプル及び反応チャンバ内の反応混合物は流体でつながってはいるが、サンプル反応バリアのために、化学的には実質的につながっていない。反応混合物は診断エレメント及び捕捉ゾーン上を移動する。リガンド類似体連結体は捕捉ゾーンで各々の受容体と結合する。反応混合物が診断エレメントを通過して、使用済み試薬リザーバへ流入するとき、過剰サンプルは反応

ド類似体連結体は捕捉ゾーンで各々の受容体と結合する。反応混合物が診断エレメントを通過して、使用済み試薬リザーバへ流入するとき、過剰サンプルは反応

混合物の後を流れ、通常は反応混合物と実質的には混ざらない。過剰サンプルは診断エレメント上を移動し、捕捉ゾーンに結合しない連結体を除去する。十分な過剰サンプルが診断エレメントを洗浄するとき、捕捉ゾーンでの結果は視覚的に又は機器によって解読され得る。

本発明の好ましい形態では、反応混合物は診断エレメントの捕捉ゾーンを通過し、次いで反応混合物はキャビラリーギャップへ進む。キャビラリーギャップは通常診断エレメントよりも小さいキャビラリー作用を有する。キャビラリーギャップの容積は、通常反応混合物の容積にほぼ等しく、そのために、キャビラリーギャップはゆっくりと反応混合物で満たされ、一度満たされると、診断エレメント又は使用済み試薬リザーバの残り部分のキャビラリー作用がより大きくなり、その結果、診断エレメントを洗浄する過剰サンプルのフロー速度が増加する。

1工程競合アッセイの別の態様では、反応混合物は、例えば米国特許第5, 028, 535号及び5, 089, 391号によって教示されるような適切な量の、各標的リガンドに対するリガンド類似体—リガンド補体連結体及び、例えば直徑0.1 μ m~5 μ mのラテックス粒子に接着した各標的リガンドに対する受容体からなる。連結体上のリガンド補体は、標的リガンドの受容体と結合しない性質の化学品又は生化学品であり得る。アッセイは、サンプルをデバイスに追加することによって開始される。サンプルは反応チャンバを満たし、試薬が実質的な平衡結合に達するまでの間インキュベートされる。反応混合物はタイムゲートを通過し、フィルターエレメントの上又は中へ入り、それぞれの受容体ラテックスに結合したリガンド類似体—リガンド補体連結体が診断エレメント上を通過しないようとする。典型的なフィルターエレメントはニトロセルロース、セルロース、ナイロン、有孔性のポリプロピレン及びポリエチレン等から構成され得る。従って、受容体ラテックスに結合しなかったリガンド類似体—リガンド補体連結体だけが診断エレメント上を通過する。連結体のリガンド補体に対する受容体は診断エレメントの捕捉ゾーンに固定化され、連結体と結合する。洗浄工程が必要とされない可能性があるのは、フィルターがラテックスに結合した連結体を除去する。

からである。しかしながら、過剰サンプル又は遺棄的試薬リザーバ由來の洗浄溶液は診断エレメントを洗浄するために使用され得る。

1工程の定量的競合アッセイの場合、リガンド類似体連結体又は連結体のリガンド補体に対する受容体は、1工程の定量的非競合アッセイに対してすでに論じたように、診断エレメント上に固定化される。従って、サンプル中の標的リガンド濃度は連結体の診断エレメント上の移動距離によって視覚化される。別の形態では、定量アッセイは、標識化された連結体、例えばリガンド類似体—リガンド補体連結体が診断エレメント上の受容体の連続的な独立した捕捉ゾーンに結合することによって実施され得る。反応混合物が診断エレメントの捕捉ゾーンを貫流する間に連結体が結合することによって定量的な結果が得られる。分析物の濃度に関連したシグナルは、例えばCCDカメラ、蛍光計又は分光光度計によって測定される。

診断エレメントとしてのデバイス

本デバイスの診断エレメントは、サンプル追加手段を用いれば、結合及び非結合連結体を分離する工程を実施するために利用され得る。サンプル追加手段、診断エレメント及び使用済み試薬リザーバを有するこのタイプのデバイスは図2に示されている。例えば、非競合アッセイの場合、少なくとも1つの受容体連結体が、少なくとも1つの標的リガンドを含むと思われるサンプルとともに、適切な容器においてインキュベートされ、この反応混合物がこのデバイスのサンプル追加ゾーンへ適用される。反応混合物は、診断エレメント及び、例えば標的リガンドに対する受容体が固定化されている捕捉ゾーンを流れ。標的リガンドがサンプルに存在している場合、標的リガンド—受容体連結体の複合体は捕捉ゾーン上の受容体に結合する。シグナル発生エレメントが酵素であれば、可視色を產生する酵素の基質又は基質に後続される洗浄溶液が次々にデバイスへ追加される。過剰な試薬は使用済み試薬リザーバへ漏れる。サンプル中の各標的リガンドの存在又は量は視覚的に又は機器によって測定される。

本明細書に参考文献として援用する、例えば米国特許第5,028,535号及び5,089,391号によって教示されるような競合的免疫アッセイの場合

、

診断エレメントは、非結合性のリガンド類似体連結体がサンプル中の標的リガンドの存在又は量に比例して診断エレメントの受容体に結合するようにして結合性及び非結合性のリガンド類似体連結体を分離するために使用され得る。

遊離及び結合した連結体を分離する工程、又はシグナル検出を導く遊離又は結合した試薬を分離する工程を必要とする免疫アッセイ又は核酸アッセイのすべてのフォーマットに、この診断エレメントの発明力ある特徴が利用され得ることを当業者は理解されよう。当業者はまた、サンプル反応バリア、反応チャンバ、タイムゲート、診断エレメント、流体制御手段及び使用済み試薬リザーバといった本発明の発明力あるエレメントが、それぞれ独立して又は様々に組み合わせて、及び本明細書に記載しない他のデバイスとともに使用され得ることを認め得る。さらに、本明細書に記載されるようなテクスチャー表面は、乾燥された試薬をエリア内で均一な層として配置することを促進する、又は領域全体の流体フロー特性を変更するためにデバイスの1つ又はそれ以上の領域で利用され得る。さらに、疎水性ゾーンは、領域内の流体フロー特性を変更するためにデバイスの1つの領域に配置され得る。当業者に理解されるように、本明細書に開示される特徴は、アッセイデバイスの製造及び使用において種々の組み合わせで利用され得る。

例えば、フィンガのついたサンプル反応バリア及び反応チャンバは、膜のような有孔性の成分を取り込んだデバイスといっしょになって、正確な容積の試薬を有孔性の膜にデリバリーするために使用され得る。タイムゲートも上記のデバイスに取り込まれ得るか、又はタイムゲートは有孔性の膜を取り込んだデバイスとともに単独で使用され得る。流体制御手段はまた、有孔性の膜を通過する試薬のフロー速度を制御する有孔性の成分を取り込んだデバイスにおいて使用され得る。本発明によるアッセイ実施の文脈では、ある特定領域の対向する壁面間の距離、例えば蓋と底、又は隣接するテクスチャー構造間の距離のようなチャネルが存在し得る。従って、リガンド受容体がデバイス表面に固定化されると、サンプル中の研究対象であるリガンドはチャネルの幅全体に拡散し、その受容体と結合し得る。

実施例実施例1抗- β hCG抗体-コロイド金連結体の製造

平均直徑4.5 nmのコロイド金を、Freiss, Nature, Physical Sciences, 240, 20 (1973) の方法により製造した。0.1Mリン酸カリウム(pH 7.58) 5.6 mlを、素早く攪拌しながらコロイド金5.0 mlへ滴加して、コロイド金連結体を製造した。hCGに対する抗 β -サブユニットモノクローナル抗体(アプライドバイオテク、サンディエゴ、CA: 4.79 mg/m¹リン酸緩衝液、0.02%アジ化ナトリウム、pH 7) 1 mlを、素早く攪拌しながら一度にコロイド金へ添加した。完全に混合した後、攪拌を停止して、この溶液を室温で1時間インキュベートした。ポリエチレングリコール(平均分子量=20,000)を、コロイド金溶液に対して1%となるように加え(1.58 ml)、この溶液を混合した。コロイド金溶液を5°Cで20分間、27,000 gの遠心分離にかけた。上澄液を除去し、各ペレットを、1.0 mMリン酸カリウム、2 mMホウ酸カリウム、0.01%ポリエチレングリコール(平均分子量=20,000)、pH 7.35 mlを用いた再懸濁及び遠心分離で2度洗浄した。最後の遠心分離の後、ペレットを洗浄バッファー-0.5 mlで再懸濁した。この金連結体はhCGアッセイ用に1.0 mg/m¹のウシ血清アルブミンを含む緩衝液(pH 8)で希釈した。

実施例2抗- α hCG抗体ラテックスの製造

界面活性剤フリーのポリスチレン粒子(インターフェイシャルダイナミクス社、ポートランド、OR: 固体濃度9.4%、0.4 μm) 0.106 mlを激しく振撲しながら、抗 α -サブユニット hCGモノクローナル抗体(アプライドバイオテク、サンディエゴ、CA: 6.3 mg/m¹、0.1 M 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸(MES)、pH 5.5) 0.89 mlへ添加し、この懸濁液を室温で15分間インキュベートした。懸濁液を遠心分離して、ラテックス粒子をペレットにした。遠心分離と1.0 mM MES、0.1 mg/m¹トレハロ

ース、pH 5.5 による再懸濁をこのペレットに対して 3 回繰り返した。最終のペレットを洗浄バッファーで再懸濁し、固体濃度を 1 % とした。

実施例 3

ヤギ抗マウスラテックスの製造

界面活性剤フリーのポリスチレン粒子(インターフェイシャルダイナミクス社、ポートランド、OR: 固体濃度 9.4%、0.6 μm) 0.11 ml を激しく振搗しながら、マウス IgG に対するヤギ IgG 抗体(ジャクソンイムノリサーチラボラトリーズ社: 0.34 mg/ml、0.1 M MES、pH 5) 0.89 ml へ添加し、この懸濁液を 4.5 °C で 2 時間インキュベートした。懸濁液を遠心分離して、ラテックス粒子をペレットにした。遠心分離と 1.0 mM MES、0.2 mg/ml トレハロース、pH 5.5 による再懸濁をこのペレットに対して 3 回繰り返した。最終のペレットを洗浄バッファーで再懸濁し、固体濃度を 1 % とした。

実施例 4

定性的又は定量的 hCG アッセイ用 1 工程デバイスの製造

8.0 ~ 10.0 μl のサンプル追加リザーバ、2.0 μl の反応チャンバ及び 4.0 μl の使用済み試薬リザーバを有するプラスチック性の 1 工程デバイスを組み立てた。このデバイスは約 2.0 μl ~ 10.0 μl のサンプルが適用できるように設計されているが、反応チャンバは 2.0 μl に固定されている。所望のアッセイにより多くの反応混合物が必要とされる場合は、反応チャンバはその容量まで増加され得るし、サンプル追加リザーバは反応チャンバ容量の約 2 ~ 4 倍にされ得る。

親水性表面を創出する官能基を移植するためにデバイスをプラズマ処置した。当業者は、プラスチックのプラズマ処置が、高振動場において制御された特定ガスの空気の中で実施されることを認めるだろう。このガスはイオン化し、表面と反応するフリーラジカルを產生する。

サンプル追加リザーバは、上底及び下底が 1.4 mm 及び 7 mm、他の二辺が 7 mm、深さ 0.49 mm の台形として成形された。サンプル追加リザーバの隣に

サンプル反応バリアがあった。

サンプル反応バリアは長さ 1. 5 mm、幅 7 mm で、サンプルフローと平行に走る溝を、1 cmあたり 50 個の密度、深さ 0. 1 mm で含んでいた。サンプル容量が 2.0 ~ 8.0 μ l より大きい場合、反応バリア及びそれによる反応チャンバの幅は、所望のフロー速度を収容するために増加され得たが、溝のサイズ及び密度は指定されたように保たれた。

反応チャンバ及び使用済み試薬リザーバーの壁面にあるフィンガは幅 1 mm、深さ 0. 4 mm で、反応チャンバ及び使用済み試薬リザーバーの各壁面に 7 つのフィンガがあった。反応チャンバの容量は 2.0 μ l であった。反応チャンバは、2.0 μ l の反応チャンバでは、上底及び下底が 7 mm 及び 3. 5 mm、他の二辺が 7. 1 mm、深さ 0. 56 mm の台形として成形された。

診断エレメントは、長さ約 2. 5 cm、幅 2 mm で、デバイスの底面から 1 mm のところにあって、反応混合物のフローに対して垂直に走る溝を、1 cmあたり 100 個の密度、深さ 0. 05 mm で含んでいた。診断エレメント上のタイムゲートの場合、タイムゲートは、反応チャンバのすぐ隣で診断エレメント上に位置付けられた。診断エレメントの幅は、捕獲ゾーンを通過する所望の速度へ反応混合物のフローを上昇できるように増加され得た。

抗- α hCG 抗体ラテックス (1 μ l) 及びヤギ抗マウスラテックス (1 μ l) をデバイスの診断エレメントへ約 1. 5 cm 離して適用した。抗- β hCG 抗体コロイド金連結体 (1.0 μ l) を反応チャンバのリザーバヘビベットで注入した。

デバイスを 1.5 分間真空放置して試薬を乾燥した。使用済み試薬リザーバは、下底及び上底が 7 mm 及び 1.5 mm、他の二辺が 8 mm、深さ 0. 5 mm の台形をしていた。

図 4 を参照すれば、使用済み試薬リザーバの好ましい実施形態では、反応混合物は、診断エレメント 6 から、フィンガ 5.2 (幅 1 mm、深さ 0. 4 mm、7 フィンガ) に助けられて、キャビラリースペース 5.5 (長さ 1. 25 mm、幅 2.7 ~ 5 mm 及び深さ 0. 48 mm) へ移動し、次いで溝のあるキャビラリ構造 (長さ 1.3. 6 mm、幅 2.5 ~ 4 mm、深さ 0. 61 mm、1 cmあたり 1.6 溝の

密度)へ入った。サンプル追加リザーバ及び反応チャンバの裏面の外壁及び頂面は、

組み立てられたデバイスのリザーバ及びチャンバから試薬が漏出するのを防ぐために、シリコングリーズで薄くコーティングされていた。デバイスのキャビラリースペースは、透明なプラスチックのポリカーボネートシートをデバイスの頂部に織くことによって形成された。プラスチックシートは、バインダークリップで対向表面につけられた。この透明なプラスチックシートには、サンプル追加リザーバ上に、サンプル導入用のサンプル入口孔があった。

実施例5

流体含有エリアに対する疎水性境界部分

表面上又はキャビラリー内部の流体フローは、流体の表面張力に影響される。例えば、コーナーに沿って交わる実質的に平面の壁によって形成されるキャビラリーチャネルにあっては、流体フローは選択的にコーナーに沿って先行する。コーナーで進行する流体フローのこの傾向が起こるのは、キャビラリーのコーナーが流体に対して最低の張力を創出するためである。

しかしながら、キャビラリー内に均一のフロー面が必要とされる場合、キャビラリーのコーナーで表面張力が減少すると、不均一なフロー面を引き起こし得る。不均一なフロー面はキャビラリーの内部にエアポケットを生む可能性がある。エアポケットが出現すると、エアポケット内でのキャビラリー表面の潤滑が減少又は阻害される。従って、抗原又は抗体の結合のような反応、化学反応又は核酸ハイブリダイゼーション反応にキャビラリーの表面が使用される場合、エアポケットの発生は反応効率を減少させる。さらに、同じ設計の各々のデバイスの似たようなキャビラリーの内部にエアポケットが発生することは予測できないので、各デバイス間での結合又は化学反応の整合性は悪くなる。従って、キャビラリー内のエアポケットには、流体フローを変える又はキャビラリー内でそれを妨げる可能性がある。

キャビラリースペースのルーメン表面に疎水性エリアを含む本発明の実施形態は、キャビラリー内の流体フローを制御する、及びより特徴すると、流体のフロ

一面が圓状ではなく凸状になるように、キャビラリーのコーナーでのフロー面を最小化するように機能する。

本明細書の発明力ある教示は、キャビラリーチャネルの内面となる疎水性の境界部分が、好ましくはエッジに沿って又はコーナーで、これらの場所においてフロー面を遮断させ、それによって、本来の圓状フロー面の代わりに凸状のフロー面を形成することを示す。圓状フロー面がキャビラリーチャネルにおいて不都合なのは、圓状フロー面はキャビラリーを通るときに空気をトラップし得るからである。なぜなら、前進する流体がキャビラリーにエアポケットを形成する傾向を圓状フロー面が増加させるからである。疎水性境界部分が前進する流体フロー面から空気が出て行くのを促進するのは、疎水性のゾーンではキャビラリーの内部に流体が保持され得る可能性が実質的に減少するためである。

好ましい実施形態では、疎水性ゾーンが表面に適用される。特定すると、疎水性ゾーンは少なくとも1つのキャビラリー表面に位置付けられ、各疎水性ゾーンはキャビラリーのエッジ又はコーナーの境界となり、流体が流れるように意図されている親水性表面の隣に位置している。キャビラリーの少なくとも1つの表面では、疎水性ゾーン又は境界部分が表面の1%～90%を占有し、各ゾーンは親水性表面及びキャビラリーのエッジ又はコーナーの隣にある。

疎水性ゾーンは表面エッジの境界を定めるか、又はキャビラリースペースに配置された材料のエッジを占有する。別の好ましい実施形態では、疎水性ゾーンはキャビラリースペースに配置された材料、例えばフィルター、膜及び高分子メッシュのような材料のエッジの境界を定める。疎水性ゾーンはキャビラリースペースに配置され得る材料の表面の1%～90%をカバーし得る。キャビラリースペース内の材料の使用に関する別の開示については、例えば、本明細書に参考文献として援用する、共出願中の米国出願連続番号08/704,804(1996年8月26日提出)を参照のこと。従って、キャビラリー内の流体フローは、キャビラリーの疎水性ゾーン内の流体フローと比較すると、キャビラリーのコーナーと接触している材料のエッジ部分で遅くなる。キャビラリー内の材料の疎水性ゾーンは材料表面の1%～90%を占有し、各ゾーンは親水性表面及びキャビラ

リーのエッジの隣にある。

さらに、本発明の実施形態は表面上又は表面や膜の内部にある別個のゾーンへ流体を適用することを考慮する。従って、別の好ましい実施形態では、表面の疎水性ゾーンは試薬が表面の上又は内部に又は膜の内部に移動しないようにする。

この実施形態では、これらのゾーンは、流体を表面のあるエリア内部に保持する側面として機能する。上記の実施形態は、適用される一定量の試薬がその試薬の静水圧によって表面上又は膜内に移動することで、表面の上又は内部又は膜内の別個ゾーンへ試薬を散布することの困難さを克服する。この問題は、流体サンプルに対するアッセイを実施しているときのような表面に沿ったキャビラリー作用によって流体の移動を促進するテクスチャを含む表面の場合に特に顕著である。しかしながら、このようなアッセイデバイスを製造する場合、そのような表面に試薬を配置することが所望され得るもの、表面はキャビラリー作用によって流体運動を促進するように設計されていて、静水圧の効果がキャビラリー作用によってもたらされる問題を悪化させるので、試薬を個別のゾーンに散布することは特に困難になる。こういった要因は予測不能な試薬エリアを創出し、個別でなくなる可能性がある。従って、表面に比較して適用される試薬の量が十分大きいと、隣接する試薬エリアは一体化して1つの繋ましくない交じり合ったゾーンを形成する可能性がある。この状況は、キャビラリー作用によって流体を表面上又は内部に捕れるようにする溝又はテクスチャを表面が含む時に、特に問題になる。一般に、このような表面は実質的には流体非浸透性である。それ故、表面の上又は内部又は膜の中に疎水性の境界部分を創出して適用される試薬を拘張又は保持することで、試薬を個別のゾーンに適用することが可能になる。

別の好ましい実施形態では、疎水性ゾーンを表面に適用し、表面上又は内部又はキャビラリー内における流体の動き全体を制御する。例えば、疎水性ゾーンは、流体フローがデバイスの様々なエリアに流れることを指向又は防止するために利用され得る。

別の好ましい実施形態では、疎水性ゾーンは、表面上で液体を一様に乾燥することを促進するために、チャンバのコーナーに隣接するような表面のエッジに配

置される。この実施形態は表面で液体を乾燥するときには有用であるが、この場合、疎水性の境界部分がないと、表面又はチャンバに追加される液体は、蒸発の発生について表面又はチャンバのエッジ又はコーナーに堆積してしまう。後者の状況が起こるのはチャンバのコーナーではメニスカスが形成され、蒸発についてコ

ーナーのメニスカスへ移動することが液体にとってエネルギー的に有利になるからである。それ故、蒸発の結果として、不均勻に大量の乾燥試薬がチャンバの表面よりもチャンバのコーナーに存在することになる。疎水性の境界部分をチャンバのコーナーに隣接して新規に使用すると、液体は疎水性の境界部分には堆積しないので、液体メニスカスがコーナーで形成されることを防ぐ。従って、この実施形態の適用により、得られる乾燥液体はチャンバの表面により均一に分散される。

疎水性ゾーンはまた、すでに親水性にされた表面に対しても創出され得る。当業者には、例えば、コロナ放電、気体プラズマ処置、洗剤又はタンパク質での処置等の、表面を親水性にするために使用されるいくつかの技術が知られている。上記の技術によって親水性にされた表面に対し、このプラズマ処置を破壊する又はタンパク質を変性する有機溶媒を適用し、本来の疎水性プラスチック表面を再生する又は変性タンパク質によって疎水性表面を創出することによって、又は、焦点レーザーピームを使用して表面を局部加熱し、表面の親水性を破壊することによって、疎水性ゾーンが創出され得る。別のやり方では、上記の任意の方法によって親水性のエリアを創出する前に、疎水性エリアをマスクすることも可能である。エリアは鑄型のような物体でマスクされ得るか、表面に塗布され、後に除去される材料によってマスクされ得る。

脂肪族及び／又は芳香族化合物のような疎水性化合物、様々なインキ及びポリマー等が本発明による疎水性ゾーンの創出に使用され得る。この化合物は、有機溶媒又は水性溶媒と有機溶媒の混合物に通常溶ける。当技術分野で知られている種々の技術（インクジェットプリント、吹き付け、シルクスクリーン、延伸、エンボス加工、等）が、表面の上又は内部への疎水性ゾーンの適用を可能にする技

術であることを、当業者は認めるだろう。

実施例6

試薬の均一乾燥を促進するテクスチャーフィルム

追加的な実施形態では、ポストのようなテクスチャーフィルムが、表面の上に秩序だった配列で位置付けられる。流体がこの構造に接触して置かれると、各構造に小さなメニスカスが形成される。試薬流体が乾燥すると、これらメニスカスは表面上にごく均一に分布した乾燥した試薬を提供する。一般に、この構造はチャンバの底面のような表面に対して実質的に垂直なポストである。表面とその上に位置するポストの壁面の間には直線で挟まれた角が規定される。表面上のポストの密度、サイズ及び形状は、乾燥される試薬に所望される均一性の程度に依存して変化し得る。ポストの高さもまた変化し得るが、通常ポストの高さはチャンバ内における流体の高さの約1%～100%以上となるべきである；つまり、ポストが流体から突出し得るか、又は表面に適用された後に流体がポストを覆ってもよい。いずれの場合でも、ポストは、流体が表面又はチャンバから蒸発するとときにメニスカスを形成するゾーンとして機能するだろう。

実施例7

hCGの定性的又は定量的1工程アッセイ

hCGの定性的又は定量的1工程アッセイのために実施例4に記載されたデバイスが使用された。タイムゲートのないデバイスのアッセイ時間は約5～10分であった。1mLあたり0、50、200及び500mIUのhCGを含む尿溶液（6.0μL）をデバイスのサンプルリザーバに加えた。サンプルは反応チャンバに入り、コロイド金連結体を浴かし、この反応混合物が診断エレメントの第一hCGラテックス及びヤギ抗マウス1gGラテックス捕捉ゾーン上を移動した。反応混合物は使用済み試薬リザーバへ入り、過剰サンプルが診断エレメントを洗浄した。hCGに対する捕捉ゾーンの色密度は、MINOLTA CHROMA METER CR241を使用して、540nmで機器によって測定した。hCGの捕捉ゾーンにおいて、hCGを含むサンプルは赤色に見え、hCGのないサンプルは赤色に見えなかった。0、50、200及び500mIU/mLに対する

する△E*値は、各々0.7, 7.78, 12.95及び20.96であり、陽性対照（ヤギ抗マウス IgG）ゾーンでは△E*値約3.5の明瞭な赤色線が観察された。

実施例8

タイムゲートを使用するトCCの定性的又は定量的1工程アッセイ

実施例4に記載されるようなデバイスがタイムゲートを追加して製造された。

タイムゲートは、反応チャンバ内の反応混合物と接触している診断エレメント上に形成された。

タイムゲートは、固体濃度2%で界面活性剤フリーの硫酸化ラテックス（1.0 μm、インターフェイシャルダイナミクス社、ポートランド、OR）を1 μl 加えることによって製造された。他の試薬ラテックス及び金連結体もデバイスに追加し、実施例7に記載されるようにして乾燥した。透明なプラスチックシートをデバイス上に置き、各々0.50, 200及び500mIU hCC/mIを含む種々のサンプル（約6.0 μl）をデバイスに加えた。

サンプルは反応チャンバに入り、コロイド金連結体を溶かし、この反応混合物は約8～10分間反応チャンバにとどまった。タイムゲートのないデバイスでは反応混合物は反応チャンバに5秒～1.5秒とどまっただけである。反応混合物のタンパク質様成分は、サンプル中に存在し得るし、反応混合物の成分として加えられたウシ血清アルブミンであったが、タイムゲートのラテックス粒子に結合し、タイムゲートの疎水性表面を親水性表面に変えた。ゼラチン、血清アルブミン、免疫グロブリン、酵素等の他のタンパク質及びポリペプチド及び親水性のポリマーもまた疎水性ゾーンに結合するよう作用するだろう。

反応混合物のタンパク質様成分がラテックス粒子に結合することでもたらされる、疎水性表面の親水性表面への漸次転換によって、反応混合物がタイムゲートのエリアを越えて流れることが可能になった。

タンパク質、つまりウシ血清アルブミンを反応混合物に加えなかった対照実験では、実験時間（5 h）の間に反応混合物がタイムゲートを越え診断エレメント上へ流れることは起こらなかった。この対照実験は、尿サンプル自体は、タイム

ゲートの適用されたラテックスに結合しタイムゲートの疎水性を変化させ得るほど十分なタンパク質又は成分を含んでいないことを示した。サンプル中の成分だけを使用して疎水性タイムゲートを親水性に転換し、反応混合物が流れ得るようにする場合には、適切な時間量で反応混合物がタイムゲートを超えて流れ得る程度に、タイムゲートへ適用するラテックスの量及び全表面エリアを下げることが望まれるだろう。

この反応混合物は診断エレメントの一抗-h CG ラテックス及びヤギ抗マウス Ig G ラテックス捕獲ゾーン上を移動した。反応混合物は使用済み試験リザーバーへ入り、過剰サンプルが診断エレメントを洗浄した。h CG に対する捕獲ゾーンの色密度は、MINOLTA CHROMA METER CR241を使用して、機器によって測定した。h CG の捕獲ゾーンにおいて、h CG を含むサンプルは赤色に見え、h CG のないサンプルは赤色に見えなかった。0、50、200 及び 500 mIU/mI に対する ΔE^* 値は、各々 0、6、51、13、14 及び 18、19 であった。各デバイスのヤギ抗マウス Ig G 捕獲ゾーンで赤色線が見られた。

実施例 9

フロー制御手段を使用する h CG の定性的又は定量的工程アッセイ

実施例 4 に記載されるようなデバイスが選択的なフロー制御手段を追加して製造された。

選択的フロー制御手段又は「ギャップ」は、診断エレメントの h CG 金連結体に対する捕獲ゾーンの後に配置された。2つの表面間のギャップは 0、3.8 mm、ギャップの長さは 1.3、2 mm、頂部上のギャップの幅は 9 mm であったが、ギャップの有効幅は診断エレメントの幅 (2 mm) であった。この診断エレメント上のギャップ容積は約 $1.0 \mu l$ で、この場合、反応チャンバの容積の半分であった。

抗-h CG ラテックス及びヤギ抗マウスラテックス、及び金連結体を、実施例 7 に記載されるようにしてデバイスに加えて乾燥した。1つの面にギャップを有する透明なポリカーボネート製プラスチックシートを、ギャップが診断エレメン

トに向くようにしてデバイス上に置いた。0及び200mIU・hCG/mIを含むサンプル(約60μl)をデバイスに加えた。サンプルは反応チャンバーに入り、コロイド金属性結合体を溶かし、診断エレメントの抗-hCGラテックス上を移動した。次いで反応混合物は、抗-hCGラテックス捕捉ゾーンの直後にあるギャップへ入った。反応混合物が捕捉ゾーン全体を移動しギャップを満たす間、捕捉ゾーンでのフロー速度は低下した。10μlの反応混合物がギャップを満たす時間は約1.2分～1.6分であったが、選択的フロー制御手段のないデバイスを用いた場合、反応混合物が捕捉ゾーンを通過する時間は約1分～3分であった。反応混合物がギャップを満たすと、反応混合物は診断エレメントの狭いキャビラリーハブ入り、ヤギ抗マウス捕捉ゾーンを移動した。反応混合物は使用済み試薬リザーバーへ入り、過剰サンプルが診断エレメントを洗净した。

hCGに対する捕捉ゾーンの色密度は、MINOLTA CHROMA METER CR241を使用して、機器によって測定した。hCGの捕捉ゾーンにおいて、hCGを含むサンプルは赤色に見え、hCGのないサンプルは赤色に見えなかった。0及び200mIU/mIに対する△E*値は、0及び1.6、1.2であった。200mIU/mIのサンプルに対し、フロー制御手段のないデバイスのhCG捕捉ゾーンの△E*値は、1.6、3.2であった。各デバイスのヤギ抗マウスIgG捕捉ゾーンで赤色継が見られた。

実施例1.0

多工程アッセイ用診断エレメントの製造

サンプル追加リザーバ及び診断エレメントを含むデバイスが組み立てられた。親水性表面を創出する官能基を移植するためにデバイスをプラズマ処置した。サンプル追加リザーバは長さ12mm、幅6mm、深さ0.05mmの大きさであった。診断エレメントは長さ約5.5cm、幅1.3mmで、デバイスの基底面から1mmのところにあって、反応混合物のフローに対して垂直に走る溝(密度100溝/cm、深さ0.05mm)を含んでいた。定性的アッセイの場合、抗体ラテックス(1μl)を診断エレメントに適用し、診断エレメントの細金体及び1cmの長さを覆った。免疫クロマトグラフィーアッセイの場合は、抗体ラテ

ックス ($6 \mu\text{l}$) を診断エレメント全体の幅及び長さを覆った。デバイスを約1時間真空放置して試薬を乾燥した。次いで透明なプラスチックのポリエチレンシートをデバイスの上に配置することによってデバイス内にキャビラリースペースを形成した。プラスチックシートは、バインダークリップで対向表面につけられた。

実施例 1.1

診断エレメントを使用する hCG アッセイ

実施例 1.0 に記載された診断エレメントを hCG のアッセイに使用した。1 mlあたり 0, 50, 200 及び 500 mIU の hCG を含む尿サンプル ($20 \mu\text{l}$) を、抗- β hCG 抗体コロイド金連結体 ($2 \mu\text{l}$) を含む管へ加えた。この管を激しく振盪し、反応混合物を室温で 5 分間インキュベートした。反応混合物 ($20 \mu\text{l}$) を $10 \mu\text{l}$ ずつデバイスのサンプル追加リザーバへ適用した。反応混合物はサンプルリザーバから診断エレメント及び捕獲ゾーン上を流れた。捕獲ゾーンの末端にある吸収剤によって診断エレメントから使用済みの試薬が除去された。hCG に対する捕獲ゾーンの色密度は、MINOLTA CHROMA METER CR 241 を使用して、機器によって測定した。hCG の捕獲ゾーンにおいて、hCG を含むサンプルは赤色に見え、hCG のないサンプルは赤色に見えなかった。0, 50, 200 及び 500 mIU/mI に対する ΔE^* 値は、各々 0, 00, 1, 24, 3, 16 及び 5, 56 であった。

実施例 1.2

メタニトロフェンシクリジンの合成

濃硫酸 (9mI) に溶かした塩酸フェンシクリジンの冰冷溶液 (5 g, 1, 8 $\times 10^{-2} \text{mole}$) へ、攪拌しながら、発煙硝酸 (2mI) を滴加した。この反応混合物を氷水浴で 1 時間攪拌し、次いで碎氷／水の上に注いだ。この混合液を 1 N 水酸化ナトリウム (50mI) で塩基性 ($\text{pH} 12$) にし、ジエチルエーテル ($2 \times 100 \text{mI}$) で抽出した。集めた有機層を水 ($2 \times 100 \text{mI}$) で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた後、遠心し、真空蒸発させた。残渣をメチルアルコール (20mI) で処置し、溶質が溶けるまで温水浴 (80°C) で加

熱した。このフラスコをアルミホイルで覆い(生成物は光感受性である)、溶液を室温で一晩攪拌すると、黄色の圓形物が沈殿した。濾過によってこの圓形物を回収し、真空乾燥すると、光から防護すべき黄色の純結晶としてのm-ニトロフェンシクリジン3. 0 g (5.8%)を得た:融点81~82°C。

実施例1.3

メターアミノフェンシクリジンの合成

メチルアルコール (150 ml) に溶かしたm-ニトロフェンシクリジン溶液 (3.0 g, 1.0, 4×10^{-3} mol) へ、攪拌しながら、アルゴン流の下で10%パラジウム-カーボン (0.5 g)、次いでギ酸アンモニウム (4.0 g, 6, 3×10^{-2} mol) を加えた。この反応混合物を室温で2時間攪拌した後、触媒を濾過によって除去し、溶媒を真空蒸発させた。残渣を1N水酸化カリウム溶液 (30 ml) で処置し、ジエチルエーテル (2 x 50 ml) で抽出した。集めた有機層を水 (50 ml) で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた後、濾過し、真空蒸発させた。残渣をヘキサン (20 ml) に溶かし、この溶液を室温で一晩攪拌すると、白色の圓形物が沈殿した。濾過によってこの圓形物を回収し、真空乾燥すると、m-アミノフェンシクリジン1.4 g (5.2%)を得た:融点121~122°C。

実施例1.4

アセチルチオプロピオン酸の合成

3-メルカトプロピオン酸 (7 ml, 0.08モル) 及びイミダゾール (5.4 g, 0.08モル) のチトラヒドロフラン溶液 (THF, 700 ml) を攪拌しながら、アルゴン下、15分間にわたって1-アセチルイミダゾール (9.6 g, 0.087モル) のTHF溶液 (100 ml) を滴加した。この溶液をさらに3時間室温で攪拌した後、THFを真空除去した。残渣を氷冷水 (18 ml) で処置し、得られた溶液を氷冷濃塩酸 (14.5 ml) で酸性 (pH 1, 5~2) にした。この混合液を水 (2 x 50 ml) で抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥させた後、蒸発させた。残渣の黄色い油状の圓形粗生成物 (10.5 g) をクロロホルム-ヘキサンから再結晶させると、アセチルチオプロピオン酸 4.8 g (

收率41%)を白色固体として得た:融点44~45℃。

実施例15

メターアセチルチオプロピオニアミドフェンシクリジンの合成

m-アミノフェンシクリジン(1.4g, 5.4x10⁻³mol)及びアセチルチオプロピオニアミド(0.87g, 5.8x10⁻³mol)の無水デトラヒドロフラン溶解(7ml)を攪拌しながら、ジシクロヘキシルカルボジイミド(1.19g, 5.8x10⁻³mol)を加えた。このフラスコをアルゴンで満たし、溶液を室温で2時間攪拌した。混合液を通過して不溶性のジシクロヘキシル尿素を除去し、真空蒸発させた。残渣の固体をクロロホルム/ヘキサンから再結晶させると、m-アセチルチオプロピオニアミドフェンシクリジン1.5g(71%)を白色の結晶性固体として得た:融点152~4℃。

実施例16

メタ-3-メルカブトプロピオニアミドフェンシクリジンの合成

m-アセチルチオプロピオニアミドフェンシクリジン(0.01g, 2.57x10⁻³mol)を、0.12M炭酸カリウム[8.0%メタノール/2.0%水(v/v)]溶液1.29mlに溶かした。この溶液を室温で5分間放置した後、0.5mリン酸カリウム(pH7)0.2mlを直ちに加え、次いで塩酸(1N)でpH7~7.5へ調整した。表記の化合物は溶液状態のまま使用してBSA-SMCCと反応させた。

実施例17

ウシ血清アルブミンに結合したフェンシクリジン類固体(BSA-PCP)の製造

ウシ血清アルブミン(BSA, 2.0mg/ml溶液の3.5ml)をサクシニミジル4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC, ピエールケミカル社)に、6.7mg SMCC/0.3mlアセトニトリル溶液を加え、1N水酸化カリウムでpHを7~7.5に維持しながら、この溶液を室温で1時間攪拌した。0.1Mリン酸カリウム、0.02Mホウ酸カリウム、0.15M塩化ナトリウム、pH7.0を用いたゲル通過クロマトグ

ラフィーによってタンパク質と未反応化合物を分離した。メタ-3-メルカブトプロピオニアミドフェンシクリジン (1.3 mM 溶液の 0.2 mL) に BSA-マレイミド (8, 2 mg/mL の 2 mL) を加え、この溶液を室温で 4 時間攪拌した。

次いで溶液を 1.0 mM MES, pH 5.5, 1.000 mL で 3 回透析した。8 mg/mL の BSA-PCP を 1.8 mL 回収した。

実施例 1.8

フェンシクリジン類似体コロイド金連結体の製造

BSA (2.2 mg) と BSA-PCP (5.6 mg) を含む 1.0 mM MES 溶液 (pH 5.5) 4.7 mL を、コロイド金の 1.0 mM MES 溶液 (1.05 mL) へ速く攪拌しながら、一気に加えた。完全に混合した後、攪拌を停止し、溶液を室温で 1 時間インキュベートした。このコロイド金連結体を、5.0 mM リン酸カリウム、1.0 mM ホウ酸カリウム、pH 7 に対して、タンゼンシャル (tangential) フローデバイス (サルトリアス・イージー・フロー、分子量 100,000 巻カットオフ) を使用してダイアフィルトレーションにかけ、BSA 及びコロイド金に結合しなかった BSA-PCP を除去した。この金連結体を PCP アッセイ用に 1.0 mg/mL ウシ血清アルブミンを含む緩衝液 (pH 7.5) で希釈した。

実施例 1.9

抗-フェンシクリジン抗体ラテックスの製造

界面活性剤フリーのポリスチレン粒子 (インターフェイシャルダイナミクス社、ポートランド、OR; 固体濃度 9.4%、0.4 μm) 0.074 mL を激しく振盪しながら、抗-フェンシクリジンモノクローナル抗体 (5.86 mg/mL × 0.1 M MES 溶液、pH 5) 0.926 mL に加え、この懸濁液を 4.5 °C で 2 時間インキュベートした。懸濁液を遠心分離し、ラテックス粒子をペレットにした。遠心分離と 1.0 mM MES、0.1 mg/mL トレハロース、pH 5.5 による再懸濁を 3 回繰り返し、このペレットを洗浄した。最終のペレットを洗浄バッファーで再懸濁し、固体濃度を 1% とした。

実施例 2.0

マウス Ig G の F c フラグメントに対するラテックス固定化・アフィニティー精

製マウス Ig G 抗体 (ヤギ抗マウス F c ラテックス) の製造

アフィニティー精製ヤギ抗マウス F c (イムノサーチ) 及びポリスチレンラテックス粒子(硫酸化、 $1.07\text{ }\mu\text{m}$)(インターフェイシャルダイナミクス)を別々に 45°C で1時間インキュベートし、抗体の溶液は、0.1M2-(N-メルホリノ)エタンスルホン酸、pH 5.5で緩衝化した。抗体溶液を激しく振盪させながら、ラテックス粒子の懸濁液を抗体溶液に加え、抗体の最終濃度を $0.3\text{ mg/m}\text{l}$ 、ラテックス固体濃度を1%とした。この懸濁液を 45°C で2時間インキュベートした後、遠心分離してラテックス粒子をペレットにした。このラテックス・ペレットを1%ウシ血清アルブミン/リン酸緩衝化生理食塩水(PBS)に再懸濁し、室温で1時間インキュベートした。遠心分離でラテックスをペレットにした後、PBS再懸濁と遠心分離を3回繰り返し、ペレットを洗浄した。最終ペレットを0.1%アジ化ナトリウム含有PBS(pH 7.0)に再懸濁し、ラテックスの固体濃度を1%とした。

実施例2.1

診断エレメントを使用するフェンシクリジンのアッセイ

実施例1.0に記載した診断エレメントを使用してフェンシクリジン(PCP)のアッセイをした。1mlあたり0、100、200及び300ngのPCPを含む尿サンプル($133\text{ }\mu\text{l}$)を、凍結乾燥したバッファー組成物(1.0 mM リン酸カリウム、 1.5 mM 堿化ナトリウム及び $1.0\text{ mg/m}\text{l}\text{ BSA}$ 、pH 8を含む)を含む管へ加え、フェンシクリジン類似体コロイド金連結体($4\text{ }\mu\text{l}$)を加え、この溶液を激しく振盪した。各々の管へ抗PCP抗体($0.1\text{ mg/m}\text{l}$ の $2.8\text{ }\mu\text{l}$)を加え、溶液を激しく振盪し、室温で5分間放置した。ヤギ抗マウス F c ラテックス(1%懸濁液の $50\text{ m}\text{l}$)を管に加え、激しく振盪した後、室温で10分間インキュベートした。この溶液を濾過し、GELMAN ACR ODISC 3シリングフィルター($0.45\text{ }\mu\text{m}$)を使用して、反応混合物から、PCP類似体金連結体：抗PCP抗体：ヤギ抗マウスラテックスの複合体を除去した。反応混合物の濾液($20\text{ }\mu\text{l}$)を実施例1.0に記載した診断エレメン

トへ適用した。反応混合物はサンプルリザーバから診断エレメント及び捕捉ゾーンを流れた。捕捉ゾーンの後方1 cmのところに吸引取りティッシュを置くことで診断エレメントから使用済み試薬リザーバを除いた。捕捉ゾーンの色密度は、MINOLTA CHROMA METER CR241を使用して、機器によって測定した。0、100、200及び300 ng/m²サンプルに対する△E*値は、それぞれ0.69、0.28、1.4、0.4及び21.6であった。

実施例2.2

典型的なデバイス配置

本発明の現時点で好ましい形態は、1工程免疫アッセイを実施し得るデバイスの実施形態を利用する。デバイスは、好ましくはサンプル追加リザーバ1、サンプル反応バリア3、反応チャンバ4、タイムゲート5、診断レーン6、使用済み試薬リザーバ7及び蓋6-4を含む。図1-1は、蓋を取り除いてデバイスの様々な部分が見えるようにしたデバイスの好ましい実施形態を示す。図1-1に蓋は示されていないが、当業者が理解されるように、蓋にはサンプル追加リザーバへ流体を導入し得るための人口孔がついている。蓋はまた、デバイスが液体で満たされるときにガスの排出を促進する通気孔をつけ得る。1つの実施形態では、通気孔は使用済み試薬リザーバのエリアで蓋についている。

サンプル追加リザーバは、赤血球からの血漿を分離する又はアッセイされるサンプルからゴミを分離するためのフィルター（図示せず）及びアッセイデバイスに使用されるサンプルを保存するためのリザーバを含み得る。フィルターに関する追加的な開示に対しては、例えば、本明細書に参考文献として掲用する共出願中の米国特許出願連続番号08/704,804（1996年8月26日提出）を参照のこと。サンプル追加リザーバはサンプル反応バリアと流体でつながっている。

サンプル反応バリアは、表面のテクスチャー構造から構成されるテクスチャーを含み得る。好ましいテクスチャーの高さは約0.01～0.02 mmで、各テクスチャー構造の幅は約0.09～0.20 mmである。近接したテクスチャー構造間の距離は約0.080～0.100 mmである。サンプル反応バリアにお

リースベースの薬をはがすC. 0.21 g. 0.8 mmで折る。好適にける。物をビニールシートにのせる。

は、キャビラリーの両エッジにおけるサンプル反応バリアの表面は疎水性になっていて、流体が選択的にキャビラリーのエッジに流れないようにする。この疎水性表面は、反応チャンバのエッジに沿ったフローを最少化するので、これらの表面はまた流体フローを反応チャンバへ指向させ、それへのアクセスがサンプル反応バリアの中央に向かって起こるようになる。サンプル反応バリアは、好みしくはサンプル反応バリア及び反応チャンバと流体でつながった10個の垂直な溝16を含む。溝は高さ約0.02~0.03mmであり、約0.5~1.5mm離れて開てられている。

反応チャンバは高さ約0. 03~1. 0 mmのキャビラリーからなり、約0. 2~6 μ lの容量を含む。好ましくは、内蓋と反応チャンバのキャビラリースペースの基底面はいずれも高さ約0. 015~0. 03 mm、直徑約0. 05~0. 1 mm、約0. 1~0. 3 mm離れた小さなテクスチャーモードのテクスチャを含む。反応チャンバはタイムゲートと流体でつながっている。タイムゲートに近接した反応チャンバの1つの表面は、フロー面を流体フローの方向に対して垂直に規定する溝を含む。溝は流体フローの方向に対して実質的に垂直に配向されている。溝は、通常高さ0. 03~0. 07 mmで、0. 08~0. 12 mm離れて離してられている。反応チャンバのエッジ、例えばコーナーの表面は疎水性になっている。本明細書に開示されるように、疎水性領域はキャビラリーのエッジでフローを滞らせ、流体が実質的にエッジを流れないようにする。

タイムゲートは高さ約0.02~0.12 mmのキャビリティよりなる。タイムゲートの1つの表面は、高さ約0.03~0.07 mmで、約0.08~0.12 mm離れている溝からなり、これら溝は反応チャンバと同様の溝に近接している。溝は、デバイスを通る流体フローの主方向に対して実質的に垂直に配向されている。本明細書に開示されるように、タイムゲートの表面は、反応チャンバからの流体フローを遮らせるために疎水性になっている。タイムゲートは診断レンズと一体でつながっている。

診断レーン／エレメント達は高濃縮の、0.1～0.05 mmのキヤ

ピラリーを含み、高さ約0.01～0.02mm、直径／幅0.03～0.07mm、約0.04～0.09mm離れたテクスチャーモードからなるテクスチャーモードを含む。診断レーンの容量は約0.5～3μlである。診断レーンにおけるキャビラリーのエッジは、キャビラリーのエッジで流体フローを遮らせ、流体がキャビラリーのエッジを選択的に流れないようにするために疎水性にされている。診断レーンは使用済み試薬リザーバと流体でつながっている。図1-5に示されるように、診断レーン6は好ましくはポイント70から始まる。診断レーンがあるポイントから始まると、流体がより予測可能な位置、通常は診断レーンに最も近い位置からレーンに入ることが可能になる。流体が予測可能な位置でレーンに入れば、今度は診断レーンそのものへの流体フローがより高く予測可能になり、同一の配置をもったデバイスの性能を均一化し得る。

使用済み試薬リザーバは、好ましくは診断レーンのキャビラリーと同様の大きさのキャビラリースペースを含み、通常は同一又はより大きい容量である。これは、高さ約0.01～0.02mm、幅／直径0.03～0.07mm、0.04～0.09mm離れたテクスチャーモードからなるテクスチャーモードより構成される。使用済み試薬リザーバは、流体の追加に伴って色変化を示し、ユーザーに対して流体がその特殊ゾーンを通過したことを視覚的に示すゾーンを含み得る。例えば、このリザーバは、流体が接触したときに無色になる着色ゾーンを含み得る。これら着色ゾーンは、前進する流体による溶解を介して薄い流される、緑色の食用色素のような水溶性の色素から構成され得る。別に、この領域は、流体がそこに流れたときに発色するゾーンを含み得る。これらゾーンは、サンプル中の染料ラベルと結合する又はそのゾーンで色を発生させる酵素と結合する受容体を含み得る。これら新規な色変化の特徴は、テストデバイスのユーザーに対し、工程の終了の度合いを示す点で実用性を有す。

図1-2を参照すれば、デバイスは好ましくは、通常外エッジ及び特定の範囲のキャビラリースペースが重要なエリアにおいて、ストップ60と呼ばれる構造を有する。

ストップは、例えば同一の方法で製造される種々のデバイス間のキャビラリースペース

ベースを均一な高さにすることに役立つ。デバイスはまた好ましくはエネルギー・ディレクタ62を含み得る。エネルギー・ディレクタもまた、例えば、超音波溶接のようなエネルギー源を使用してそれらと一緒に溶かすことにより2つの部品をつなぐといった、同一の方法で製造される種々のデバイス間のキャビラリースペースを均一な高さに規定することに役立つ。エネルギー・ディレクタはまたデバイスの2つの部品、例えば蓋と底面をつなぐことに機能する。図12に示されるように、エネルギー・ディレクタはストップよりも大きい高さを有する。ストップ及びエネルギー・ディレクタと一緒に使用すると、ストップよりも高いエネルギー・ディレクタの部分が外からかけられたエネルギー源によって溶けるように誘導される。このような溶解が起こると、つながっている2つの部品はさらに接近する。この2つの部品の接近はストップによって制限され、ストップは好ましくはエネルギー・ディレクタとともに使用されると、溶けずに2つの結合した部品の均一な分離を規定することに役立つ。この均一な分離とは、本発明によるデバイスの好ましい実施形態におけるキャビラリースペースである。

従って、ストップ及びエネルギー・ディレクタはキャビラリースペースを規定して蓋64と底面の安定な結合を維持するように設計されている。蓋を底面と結合させ、デバイス内部でのキャビラリースペースの形成を完了し、液体をキャビラリースペースに封止するエネルギー・ディレクタが、サンプル追加リザーバ、サンプル反応バリア、反応チャンバ、タイムゲート及び診断レーンに隣接しているのはそのためである。典型的には、蓋は超音波溶接で底面についている。エネルギー・ディレクタの間にあるストップは高さ約0.02~0.06mmである。ストップは、キャビラリースペースの形成を妨げるようなやり方で蓋が底面に付着しないように作用する。つまり、ストップは、多くのデバイス間で再現性のあるキャビラリースペースを規定することに役立つ。ストップは、液体がストップのエリアに入らないように、エネルギー・ディレクタによって仕切られている。

さらに、図11に示すように、デバイスは、好ましくは診断レーンの隣接サイドに1つ又はそれ以上のデッドスペース領域66を含む。デッドスペースは、微

光又は可視スペクトルの色変化のような感知し得るシグナルを、使用済み試薬リザーバ又は他のデバイス領域内に存在する反応物質に含まれるシグナルから干渉されることなく検出するためのものである。

本明細書に記載されるようなストップの新規な使用はデバイス内のキャビラリーや又は均一な高さを規定することに役立つ。当業者に理解されるように、ストップ

の高さは様々に変化させてデバイス内に多様なキャビラリースペースを確立し得る。さらに、図1-2に示されるように、本発明に準じて様々なストップ60及びエネルギー・ディレクタ62の実施形態が製造され得る。一般に、デバイスに設計されるキャビラリースペースの大きさは、アッセイされるサンプルの性質に基づいて決定される。例えば、全血又は溶解した血液は血漿又は血清よりも高い粘度を有する。それ故、全血又は溶解した血液をアッセイするためには、より高いキャビラリーギャップを有するデバイスを設計し、これらのデバイスは血清又は血漿用のデバイスよりも高いギャップを有していた。より高いキャビラリーギャップを有するデバイスでのアッセイに全血又は溶解した血液を使用したとき、上記のデバイスは、血漿又は血清を使用するために配置されるデバイスと比べて同様のアッセイ回数及びアッセイ特性を達成した。より高いキャビラリーギャップを必要とするデバイスはそれに応じたより高いストップを有していた。

ストップは、シム、接着剤又は硬化剤の層を使用して形成され得るか、又は、射出成形又は他の従来型の成形又は加工法を使用して、部品に直接成形され得る。シリコンチップを使用する場合、写真製版又はミクロマッチング技術を利用してデバイスにストップを組み込むことができる。

図1-3は、サンプル追加リザーバ1、テクスチャのあるサンプル反応パリア3、テクスチャのある反応チャンバ4、テクスチャのある使用済み試薬リザーバ7、ストップ60及びエネルギー・ディレクタ62を図示する、本発明の実施形態の電子顕微鏡写真を示す。この実施形態では、エネルギー・ディレクタ62とストップ60が一緒にになってデッドスペースを構成する。図1-4は、テクスチャのあるサンプル反応パリア3、テクスチャのある反応チャンバ4、エネルギー・ディレクタ62及びストップ60を図示する、図1-3の部分拡大図であ

る。図1-5は、タイムゲート5、テクスチャのある診断レーン6及びエネルギー・ディレクタ6-2を図示する、本発明の実施形態の電子顕微鏡写真を示す。図1-6A～Bは、エネルギー・ディレクタ6-2に近接したキャビラリースペース内のテクスチャ表面の2つの図面を示す。

図1-1に示される、本発明のさらによい態様では、デバイスはポジショナー6-8を有するように加工されていて、蓋(示さず)は非対称的に配置されるポ

ジショナー6-8と合体する位置決めエレメントを有するように設計され、デバイス内に対向している表面が適切なテクスチャを有するように、蓋が正しい方向性をもってデバイスに配置されることを確実にしている。さらに、蓋は、流体のデバイスへの導入を可能にする孔をサンプル追加リザーバ1の領域に有する。

本発明による免疫アッセイデバイスの好ましい実施形態では、免疫アッセイ試薬はデバイスの定まった領域にある別個の表面に配置される。例えば、免疫アッセイ試薬は、サンプルリザーバ、サンプル反応バリア、反応チャンバ又は診断レーンのエリア内の蓋に固定化され得る。また、別の免疫アッセイ試薬は、サンプルリザーバ、サンプル反応バリア、反応チャンバ又は診断レーンのエリア内の底面に固定化され得る。ある試薬を蓋に配置し別の試薬をデバイスの底面に配置することは、蓋と底面が最初は別々の部品を構成し、後でデバイスの組み立てにおいて結合されるとき、特に有利である。そのような固定化された試薬の1つ又はそれ以上は、流体と接触したときに分散し得る。

本発明のこの態様によれば、好ましくない架橋反応を発生させずに他の方法ではデバイスのキャビラリースペース内にパッケージされ得ない試薬がデバイス内の唯一のキャビラリースペース内に配置され得る。例えば、標識化された抗体と捕獲抗体がともにキャビラリースペース内に配置されると、標的物質がないところでも非特異的な相互作用が起こり得る。このような非特異的な相互作用はアッセイ感度を低下させる。キャビラリースペース内の別個の表面に局在化した試薬を利用し得る基本的なアッセイのタイプは、限定しないが、競合的免疫アッセイ、サンドイッチ免疫アッセイ及び核酸プローブアッセイを含む。従って、ある試薬がデバイス表面上で乾燥され、他の試薬がデバイスの別の表面で乾燥される実

施形態では、これらの試薬は、その表面に流体が導入されたとき、その各々の表面から分散され得る。試薬が固定化されている表面は、デバイスの特定のチャンバ内の表面か又はデバイスの別の領域内の表面であり得る。この領域は別個のチャンバであり得るか、又はチャンバの境界を定めないデバイス表面であり得る。

さらに、免疫アッセイ試薬は粒子又はナノ粒子（本明細書では一緒にして粒子と呼ぶ）に固定化され得る。このような粒子は、本発明によるデバイス内でキャビラリースペースの境界を定めている表面のような表面の上に配置され得る。固定化された試薬を含むそのような粒子の使用により、粒子及び表面を含むゾーンを提供することが可能になり、このゾーンは他の方法では提供し得ない試薬を含む。例えば、固定化された試薬を含む粒子は、それ自身に試薬を含む表面の上に配置され得る。従って、この表面がキャビラリースペースの表面であれば、1つ又はそれ以上のキャビラリースペースがそこに固定化された試薬を有し得る。様々な試薬が様々な表面に配置され得る。粒子によって（又は表面上に）固定化された試薬は、液体と接触したときに、分散し得るか又は分散し得ない。

従って、好ましい配置を有するデバイスの使用によって、生物学的流体由来の多くの分析物を約10分のアッセイ時間で測定する、1工程免疫アッセイの実施が可能になった。

結び

上述の発明が図表及び実施例を用いてやや詳しく記載されたが、付帯した特許請求の範囲内で、ある種の変更や修飾が実施されることは明らかであろう。

本明細書及び付帯した特許請求に使用されるように、文脈が別に明示しない場合は、単数形が複数形を含むことに留意されなければならない。従って、例えば「組成物」と言えば様々な組成物の混合物を含み、「処置の方法」と言えば当業者に知られている同等の工程及び方法を含むことになる。

他に定義しなければ、本明細書で使用するすべての技術及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって普通に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似又は同等である任意の方法及び材料は、本発明の実施又はテストに使用され得るが、好ましい方法及び材料は記載の通りである。

。本明細書で述べたすべての公表物は、その参考文献が関連して引用された特定の情報を記載及び開示するための参考文献として本明細書に援用する。

【図1】

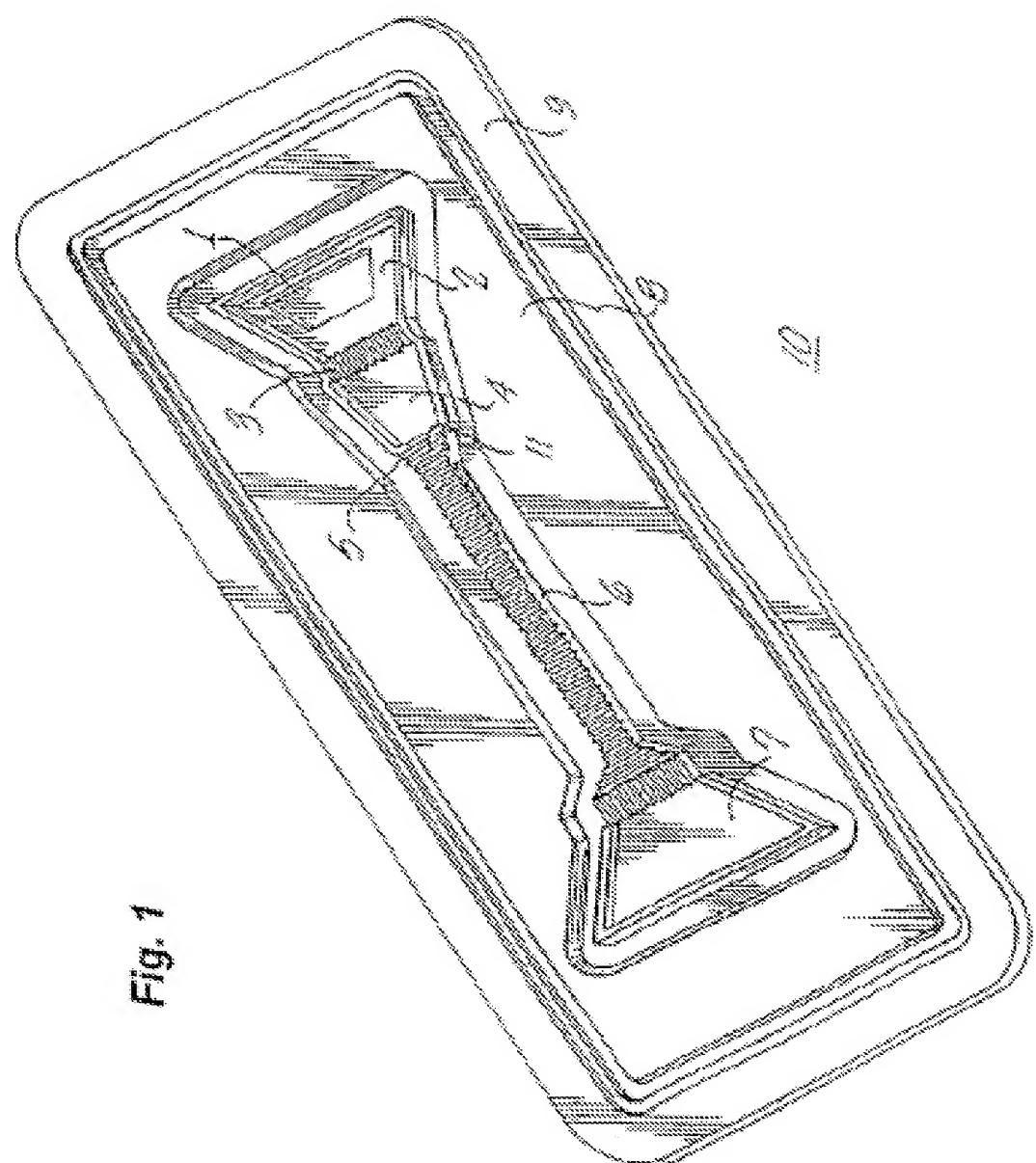


Fig. 1

【圖1】

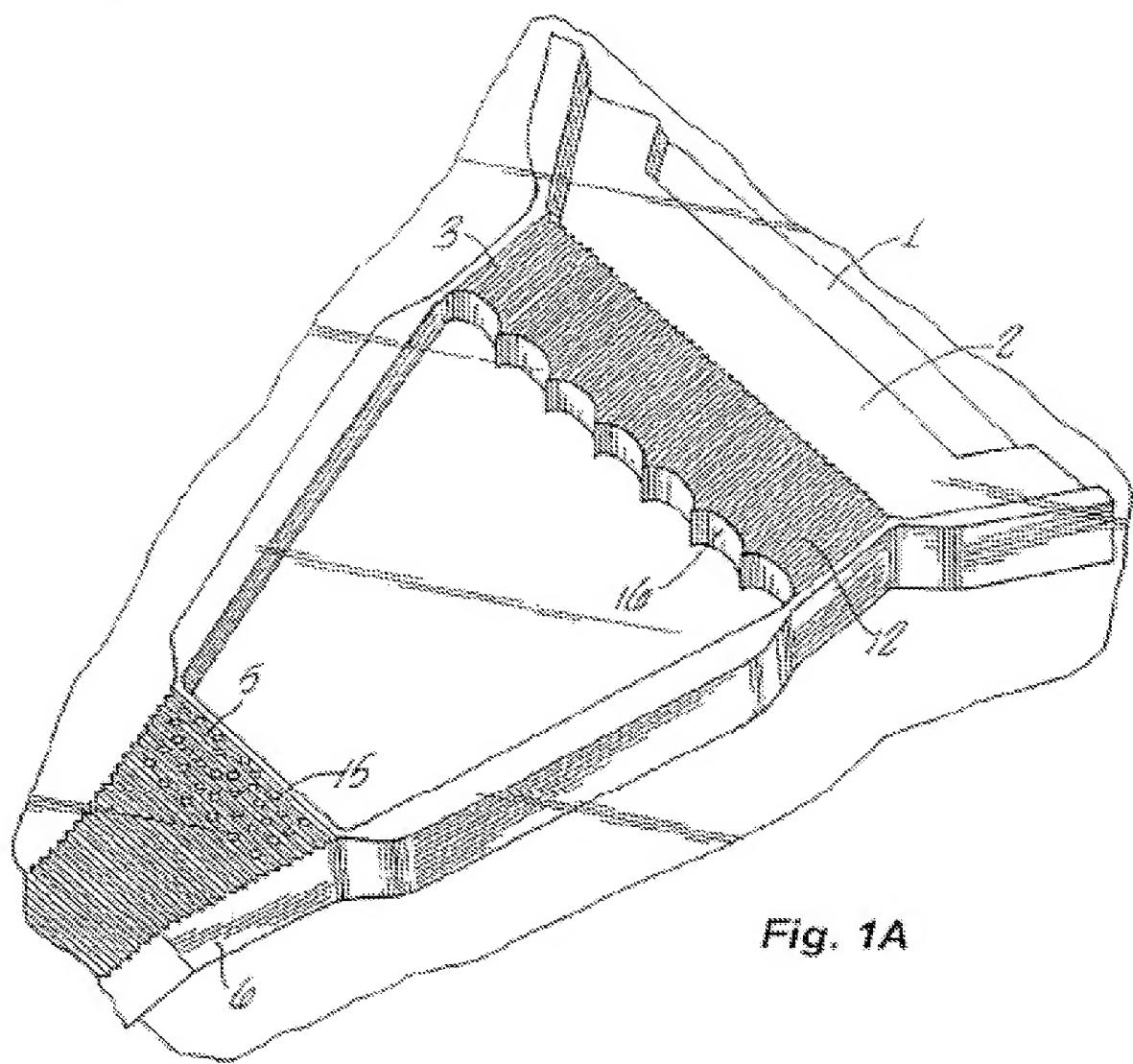
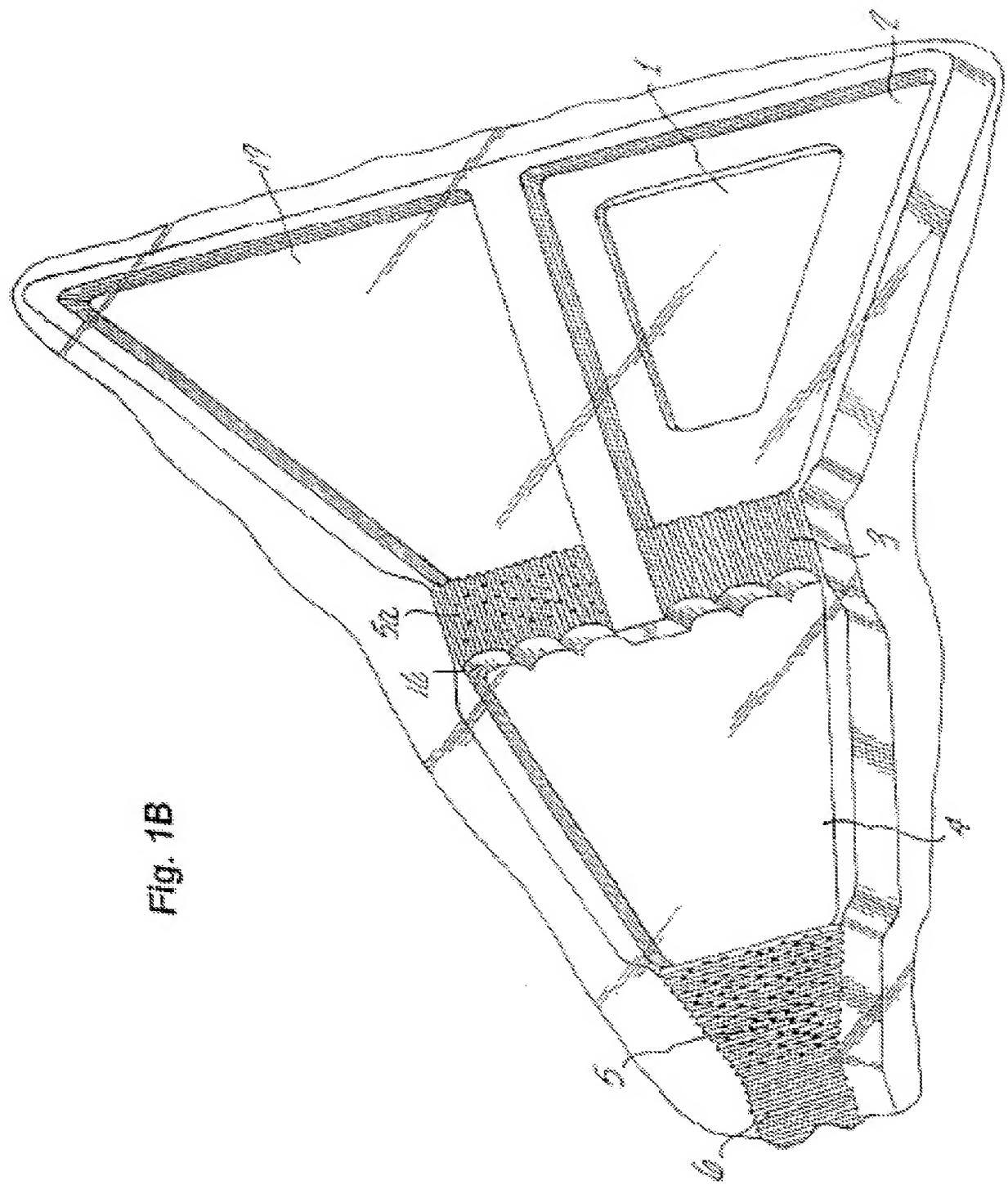


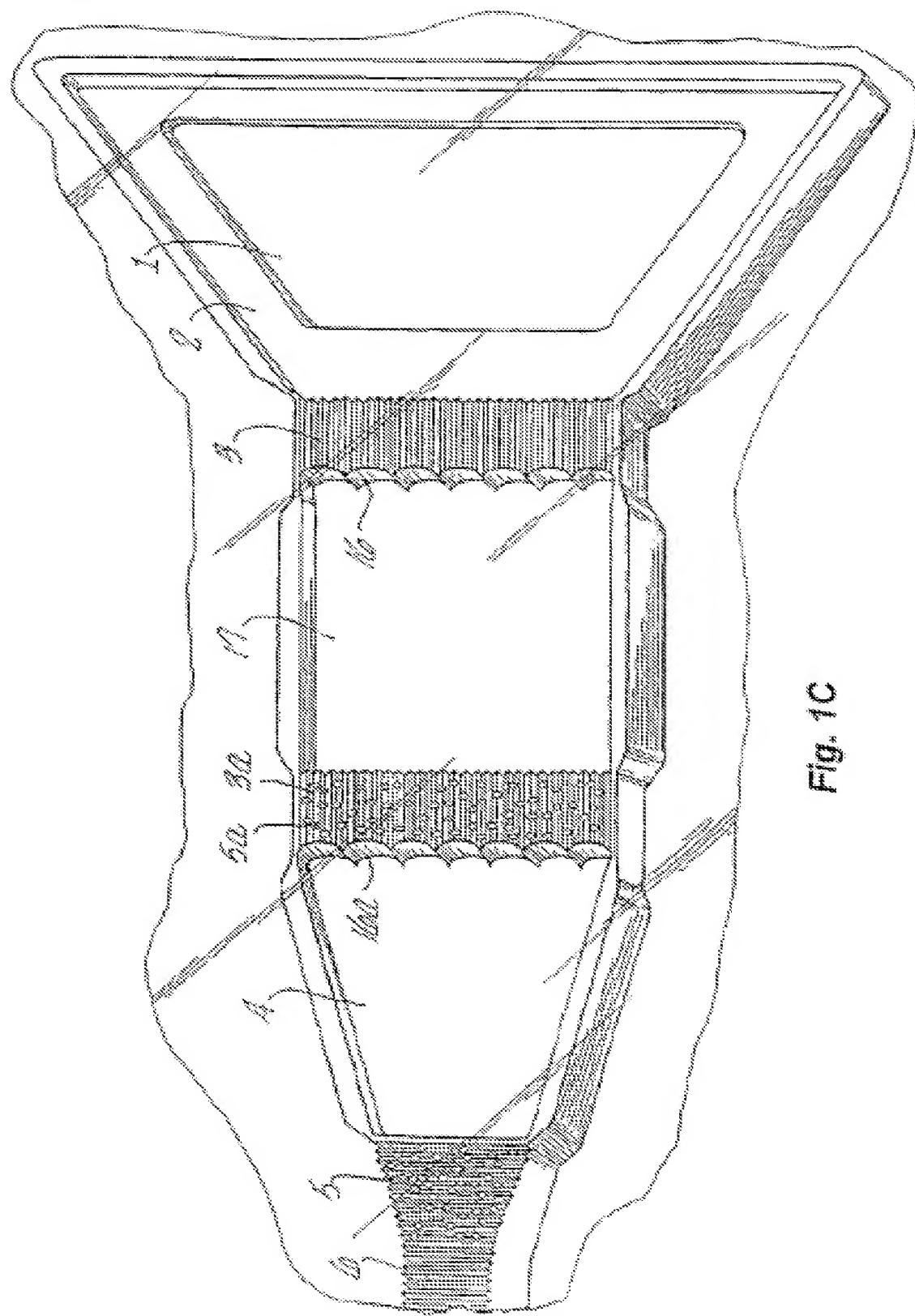
Fig. 1A

— 2 —

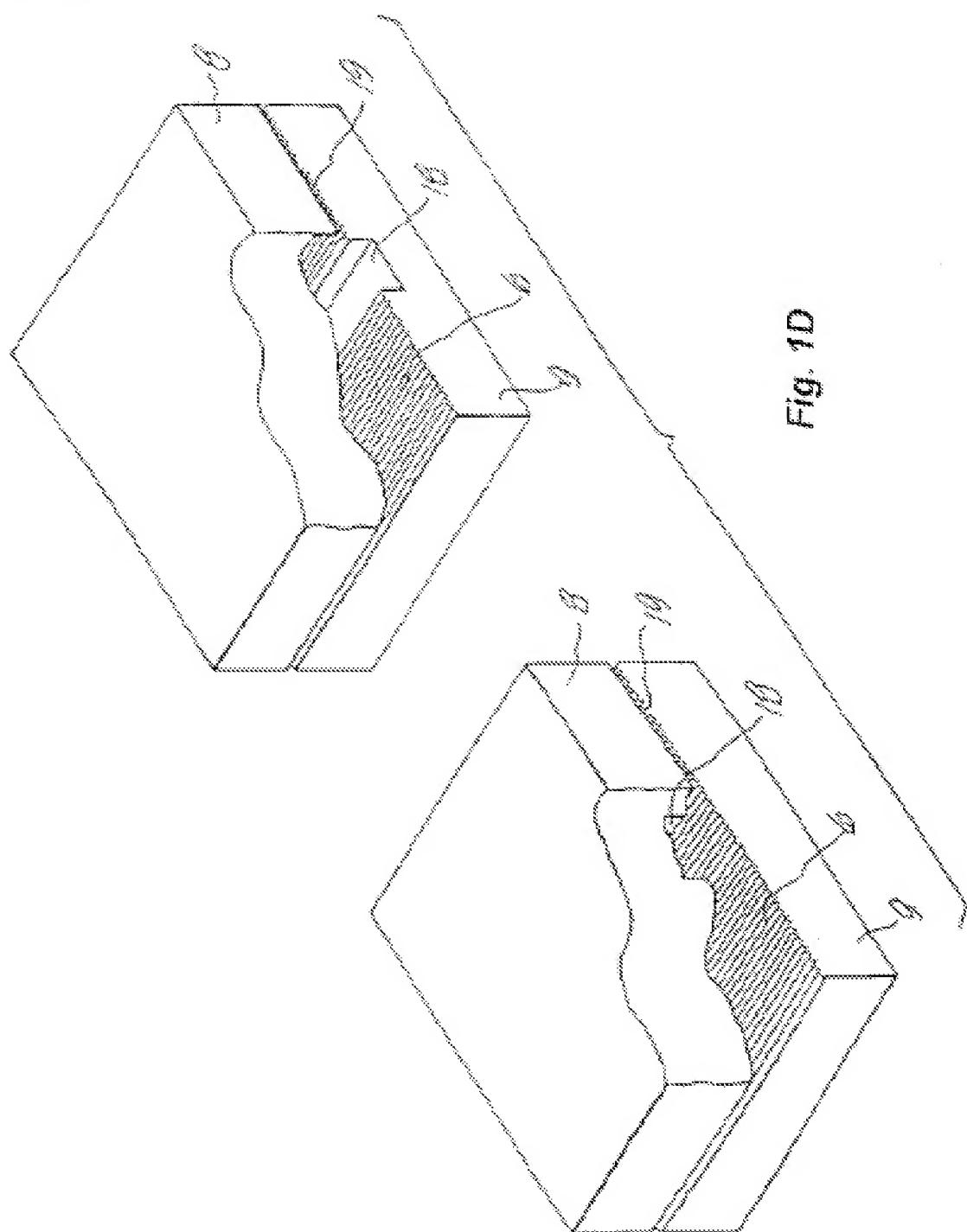


18

【図1】



【圖 1】



【図2】

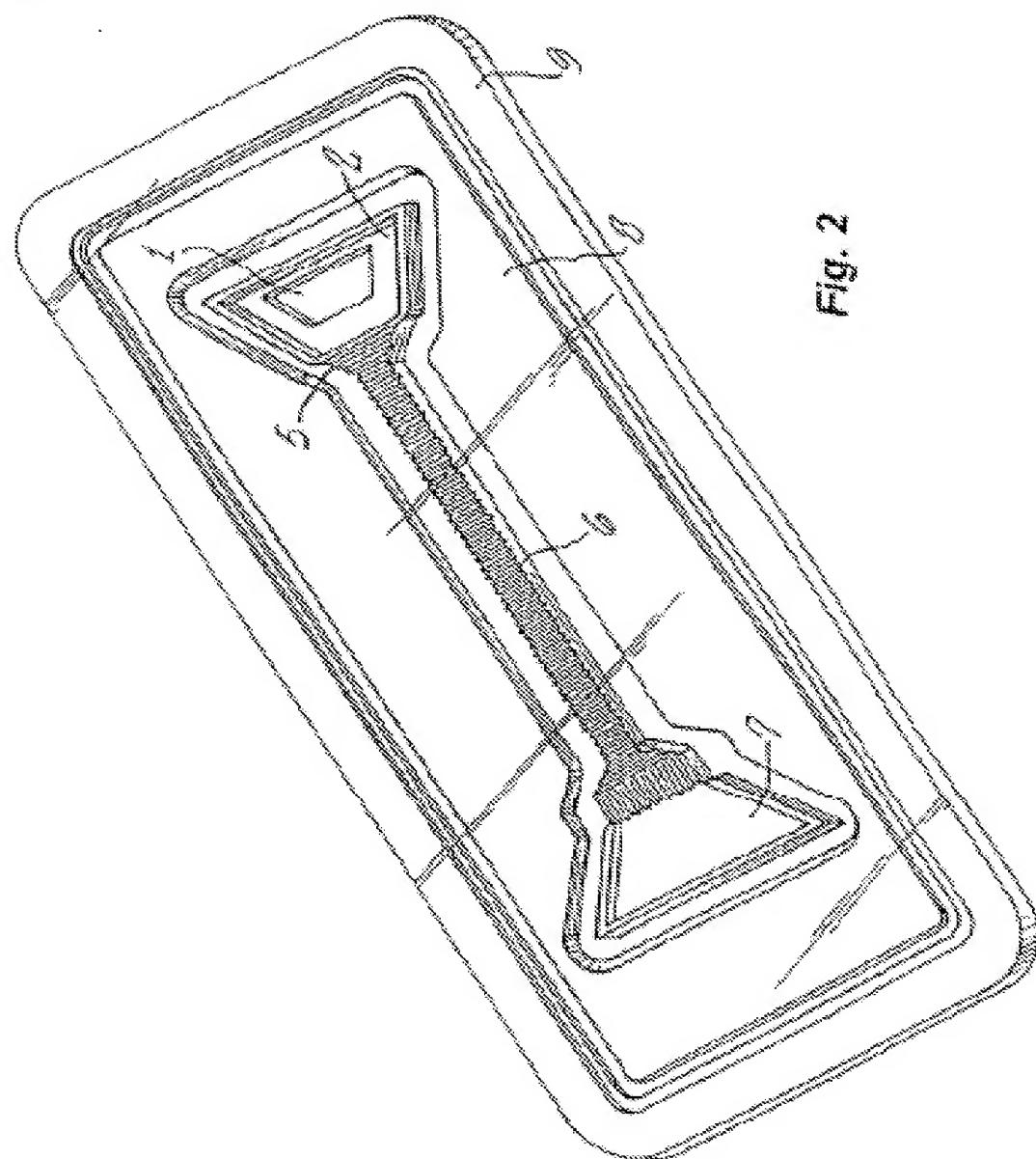


Fig. 2

【図3】

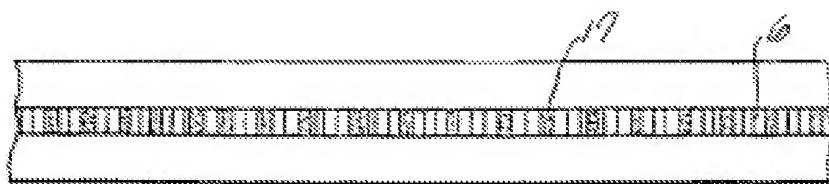


Fig. 3A

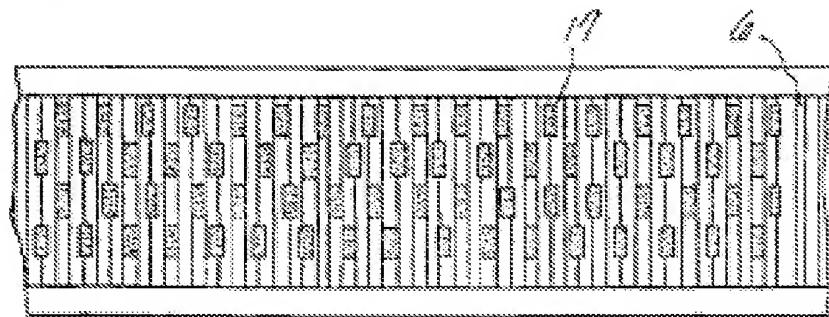


Fig. 3B

【図4】

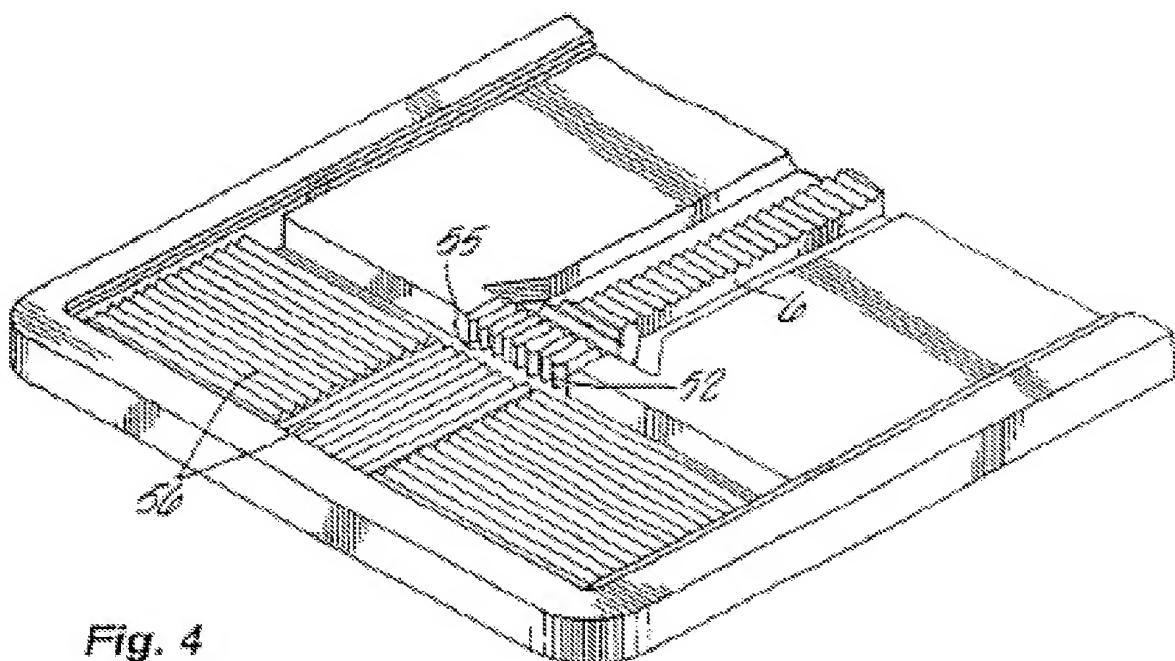


Fig. 4

【図5】

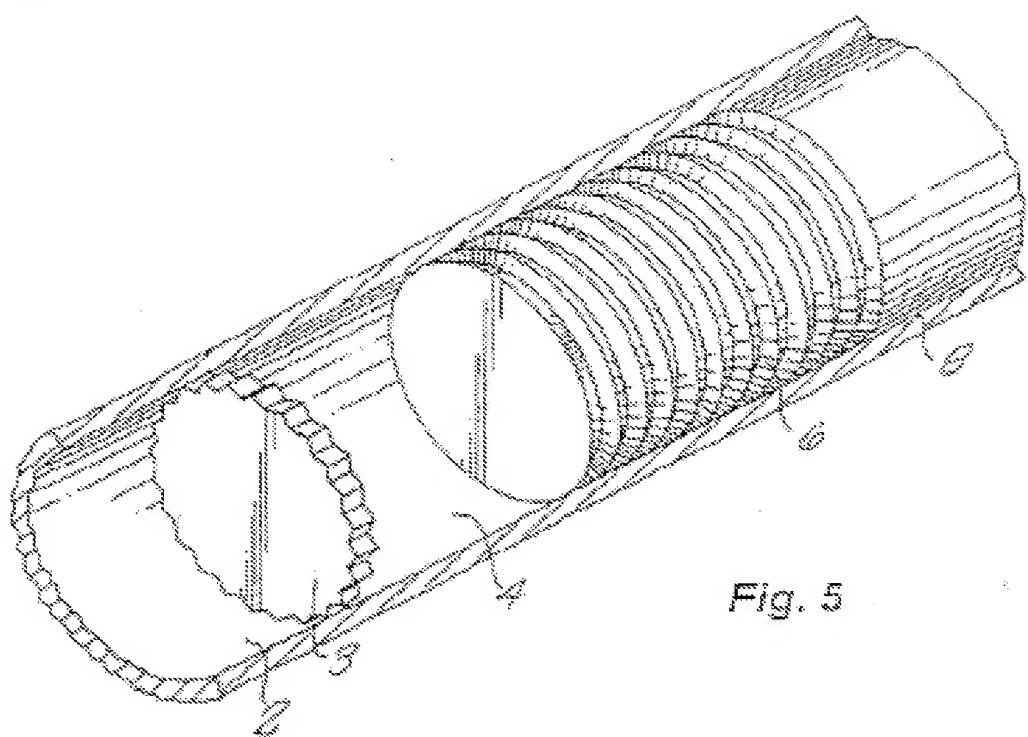


Fig. 5

【図6】

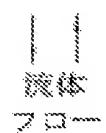


Fig. 6A



Fig. 6B

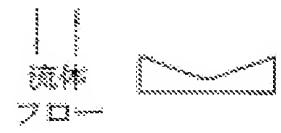
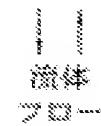


Fig. 6C

Fig. 6D

Fig. 6E

Fig. 6F



【圖7】

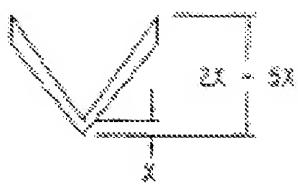


Fig. 7A

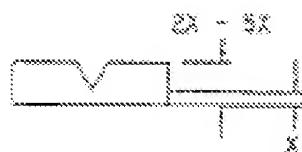


Fig. 7B

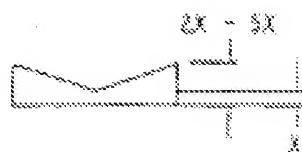


Fig. 7C

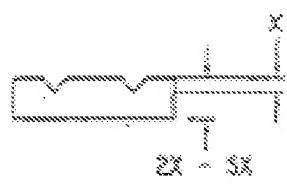


Fig. 7D

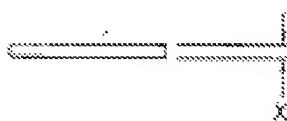


Fig. 7E

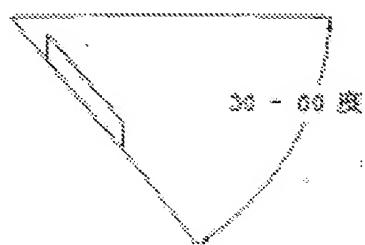


Fig. 7F

【圖8】

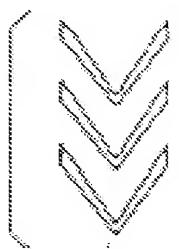


Fig. 8A

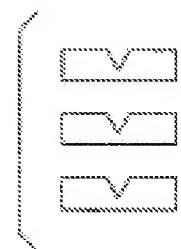


Fig. 8B

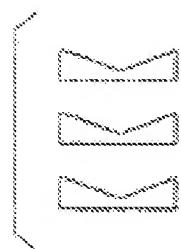


Fig. 8C

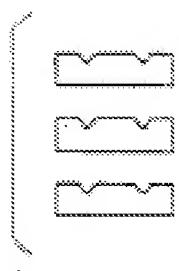


Fig. 8D

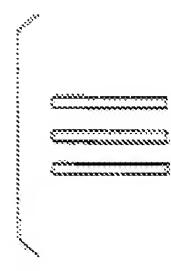


Fig. 8E

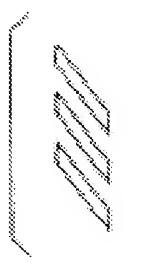


Fig. 8F

【圖9】

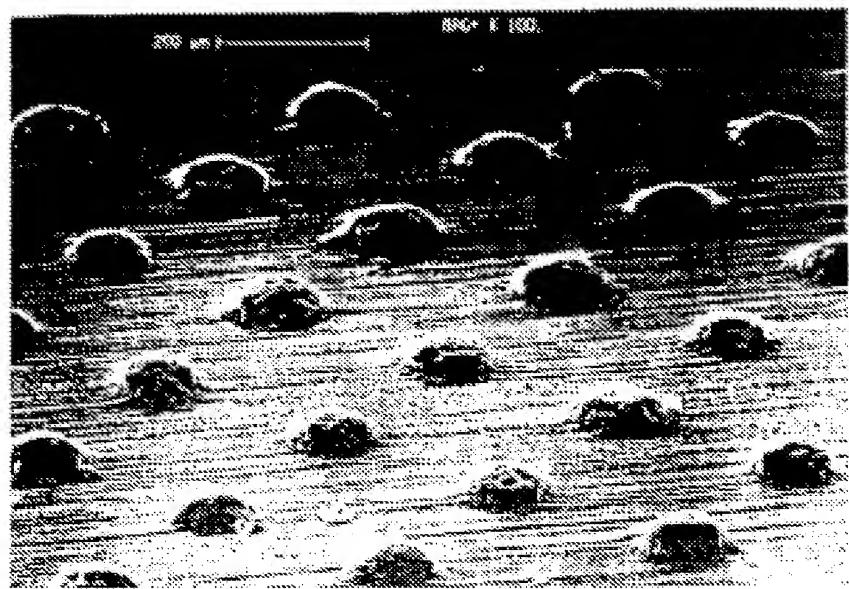


FIG. 9A.

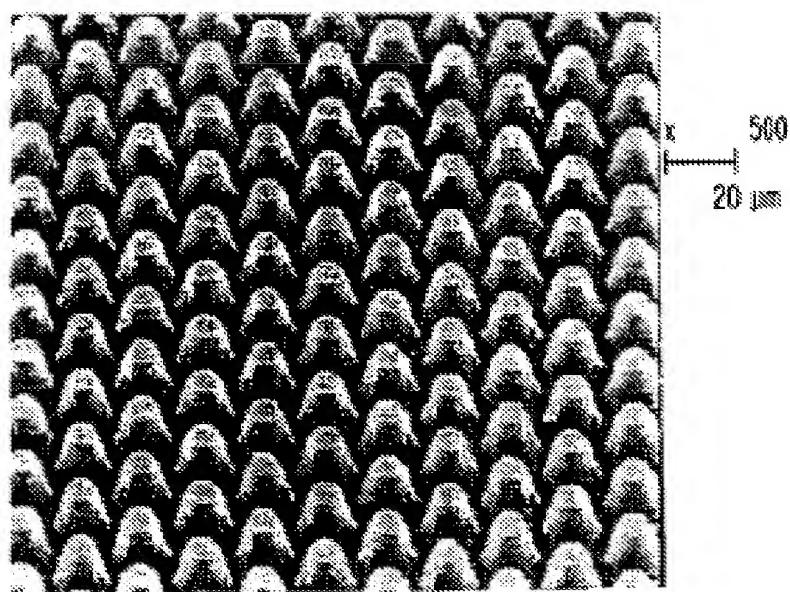
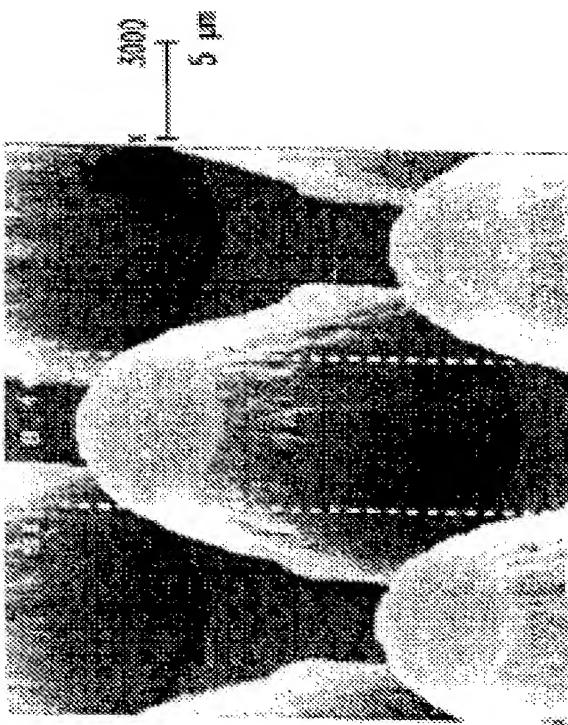
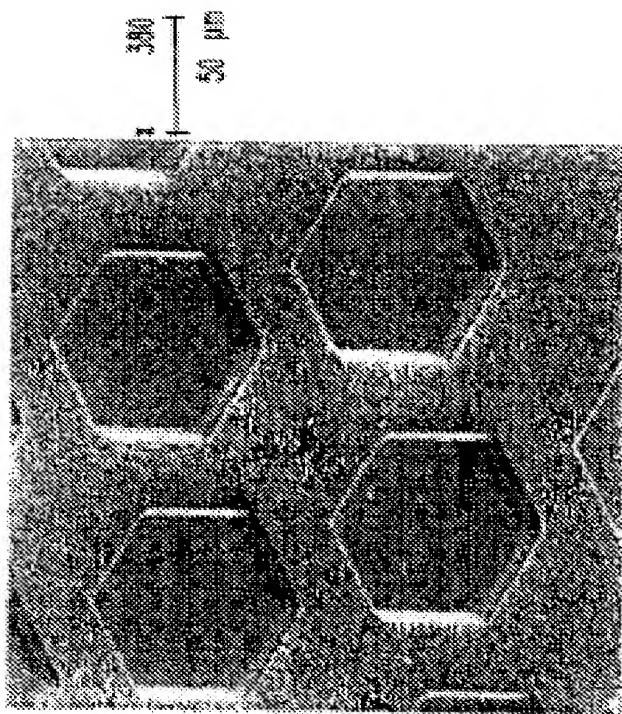


FIG. 9B.

【圖91】

FIG. 90.



【図10】

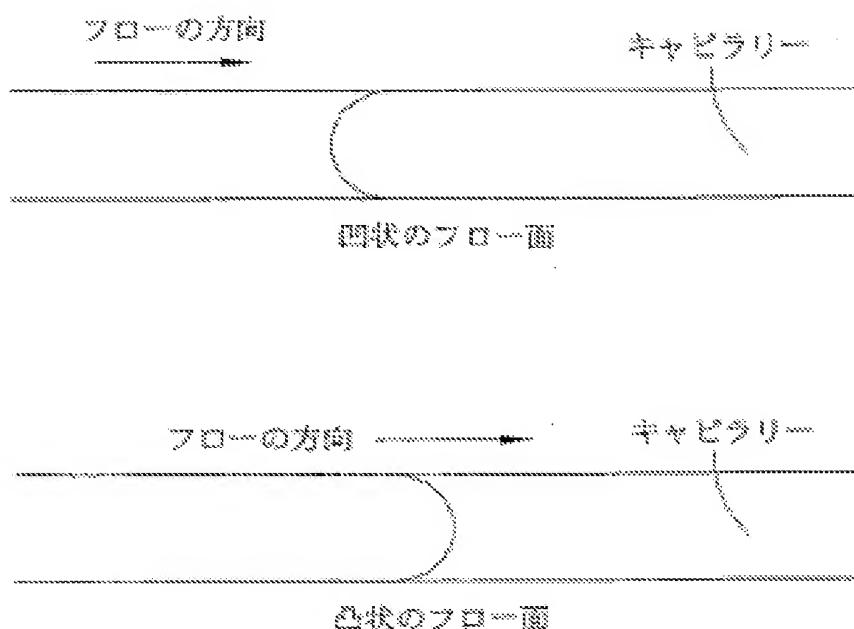


Fig. 10

【圖11】

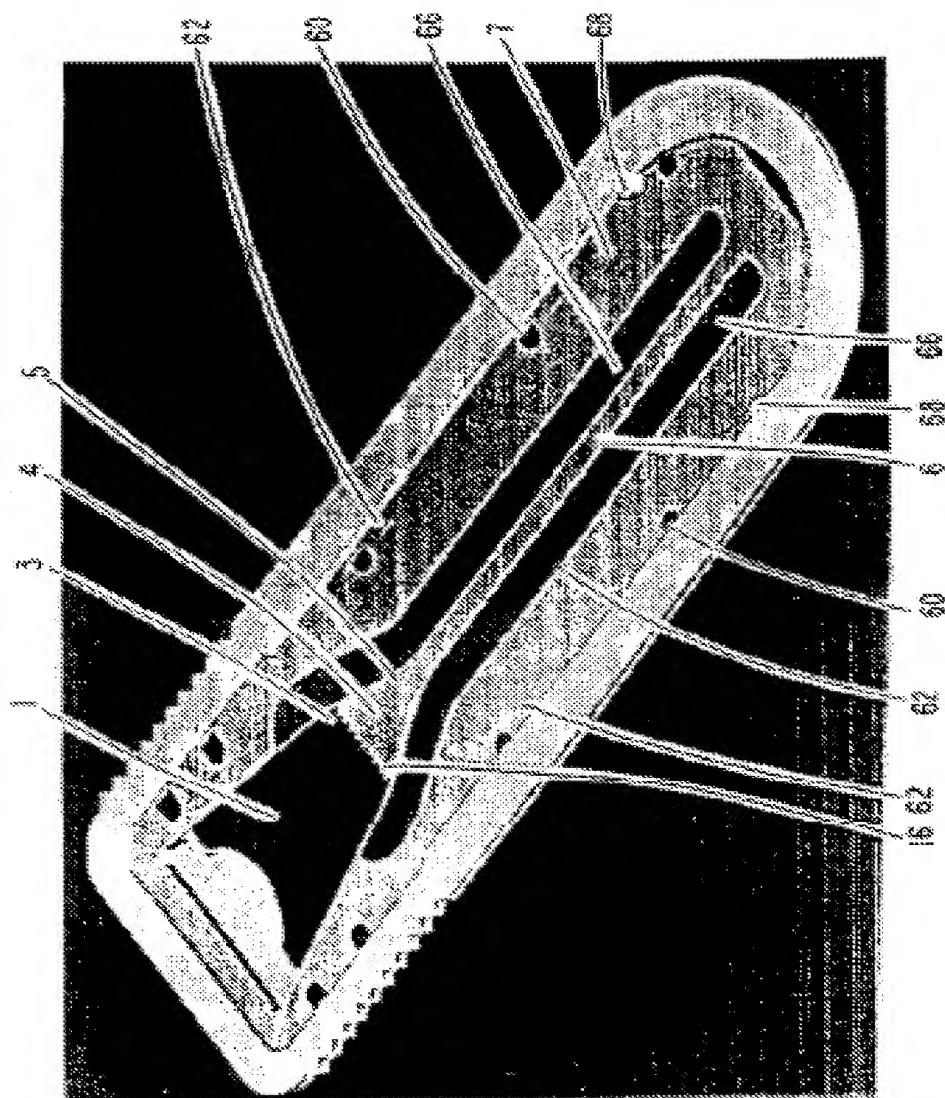


FIG. 11.

【図12】

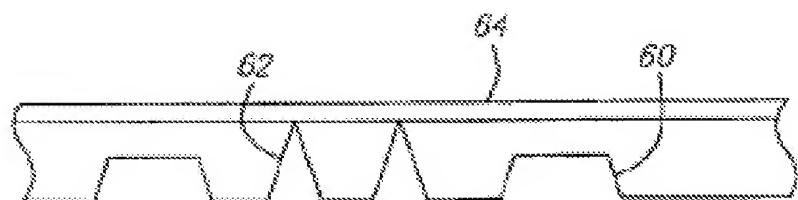


Fig. 12A



Fig. 12B

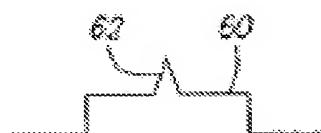


Fig. 12C

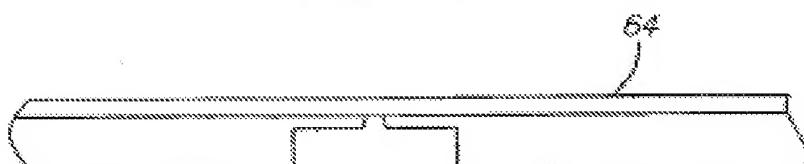


Fig. 12D

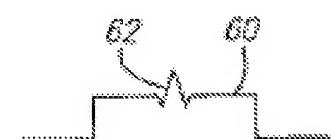


Fig. 12E

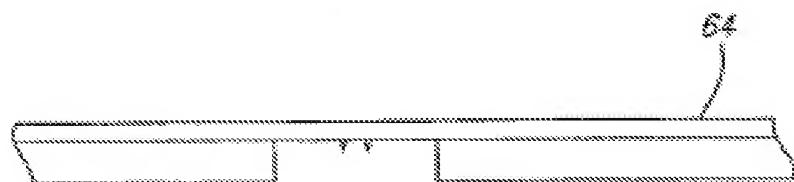
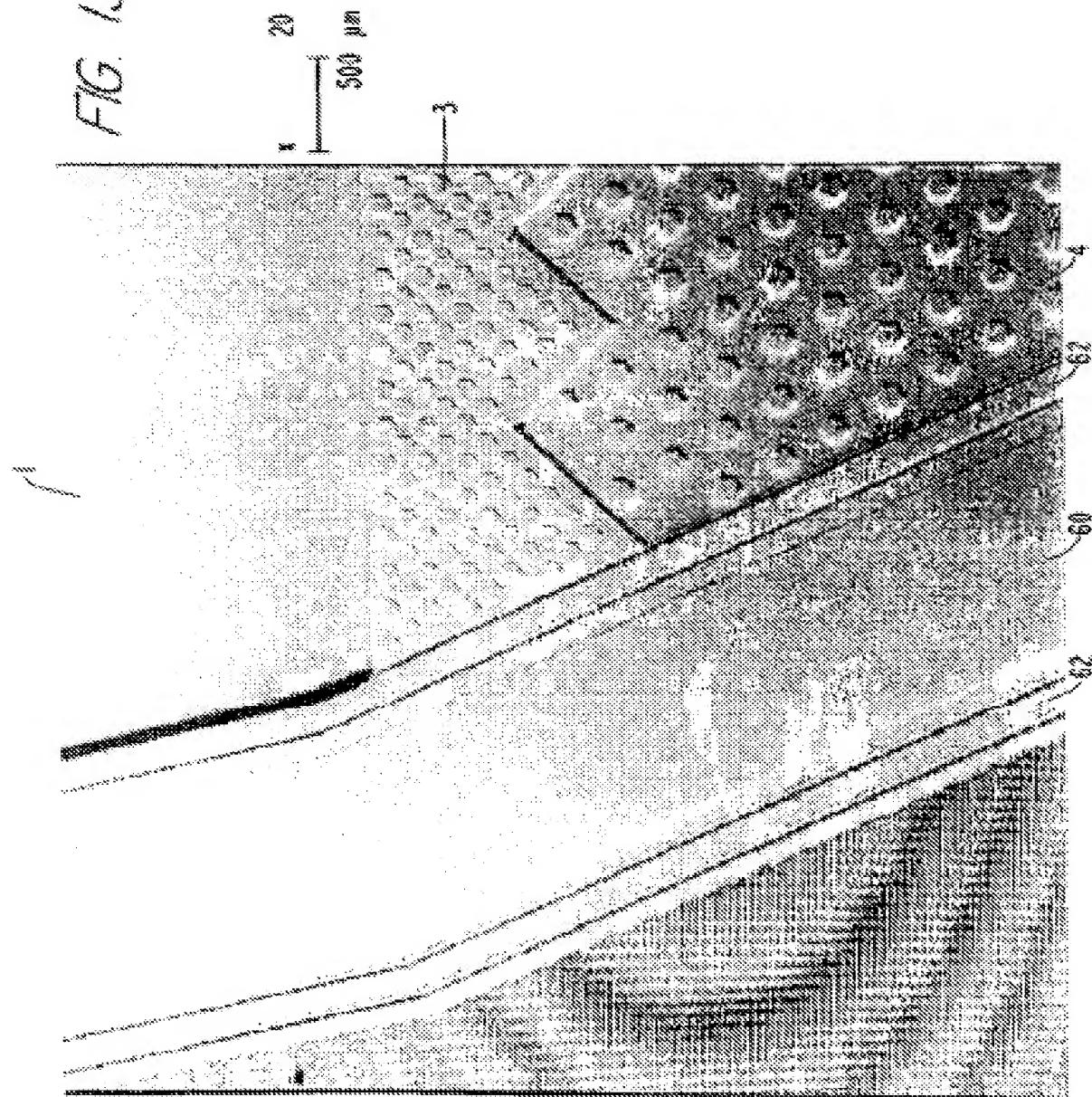


Fig. 12F

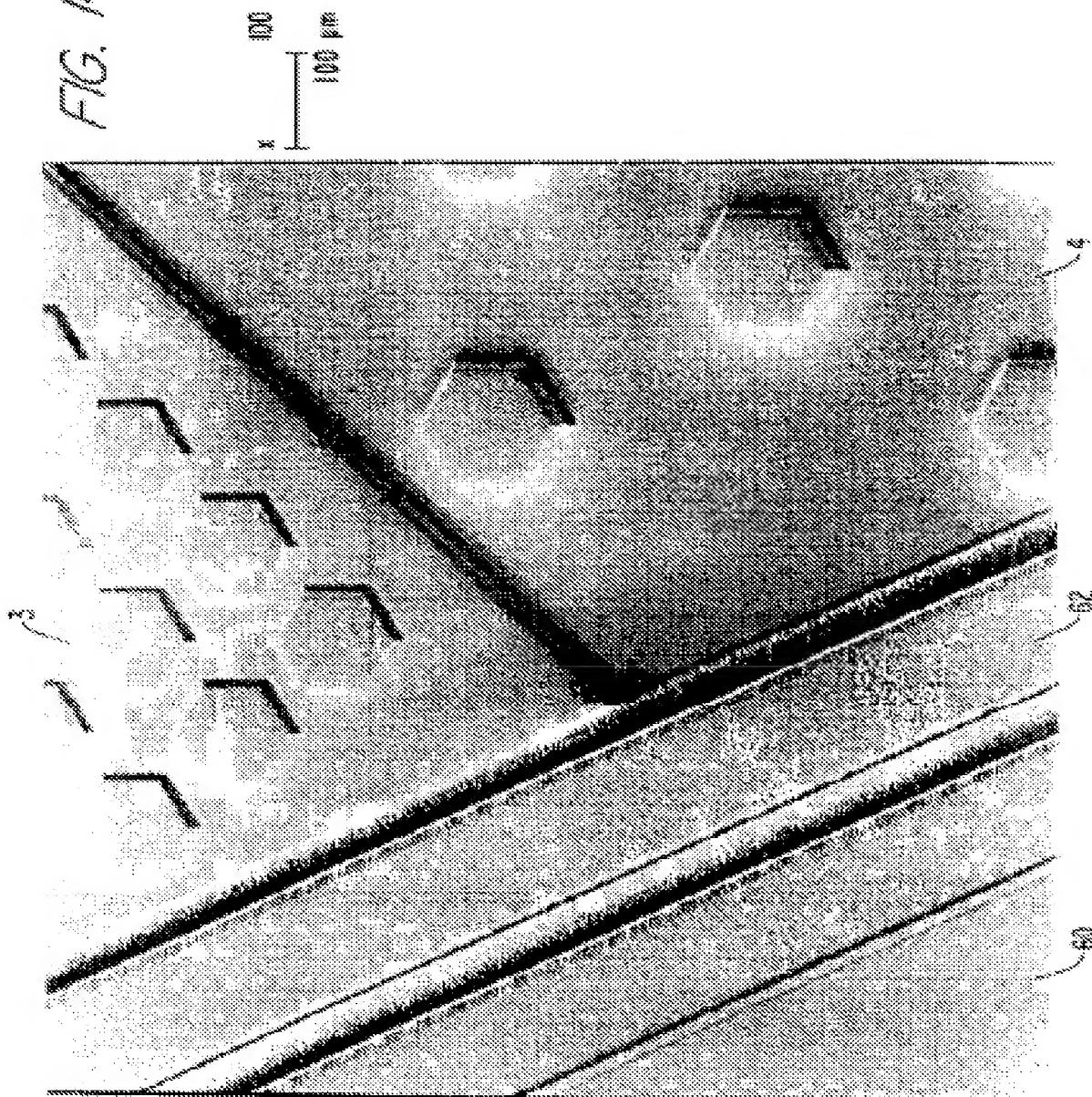
【圖 13】

FIG. 13.



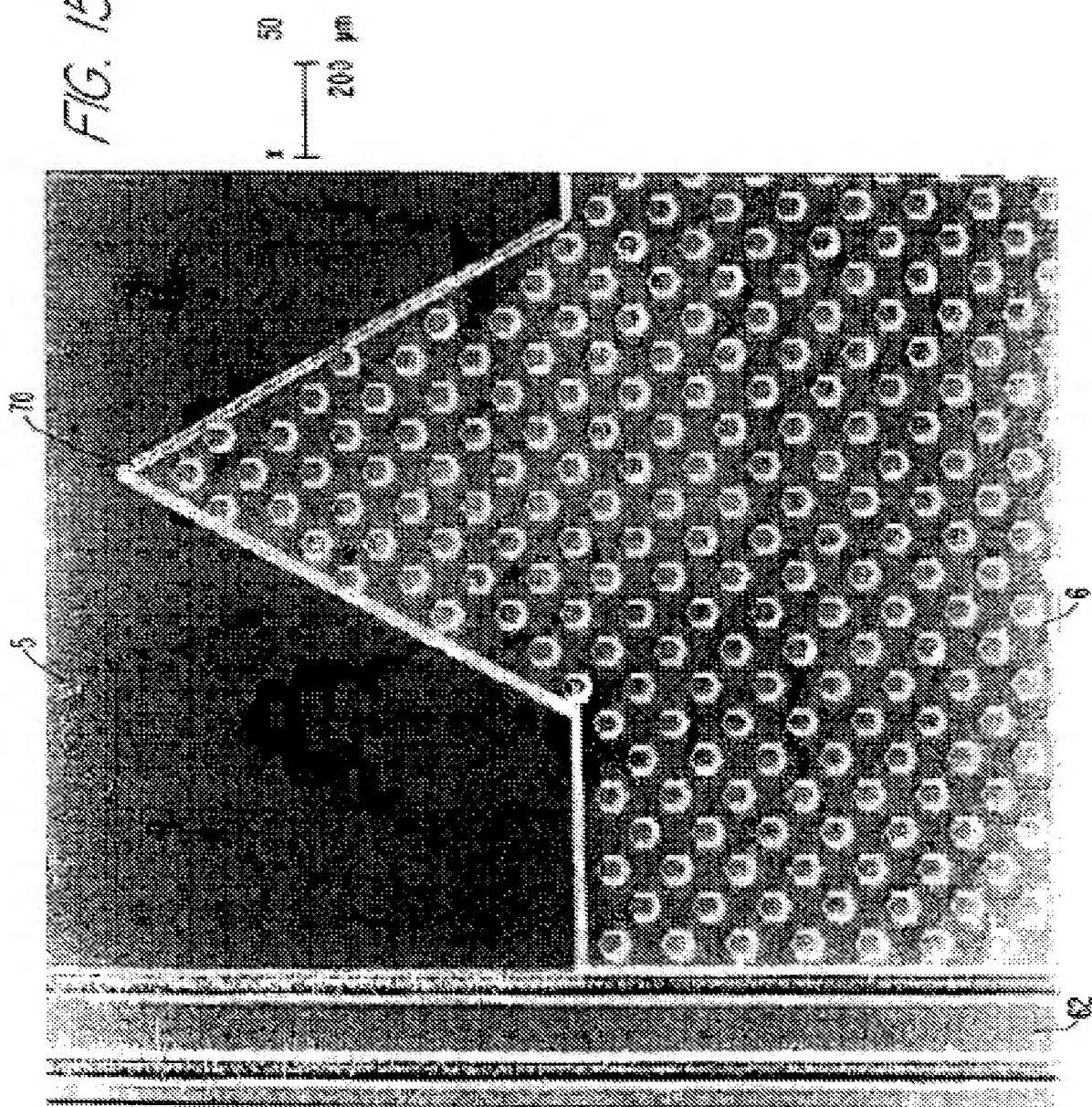
[圖 4]

FIG. 14.



[圖 15]

FIG. 15.



【圖16】

FIG. 16A.

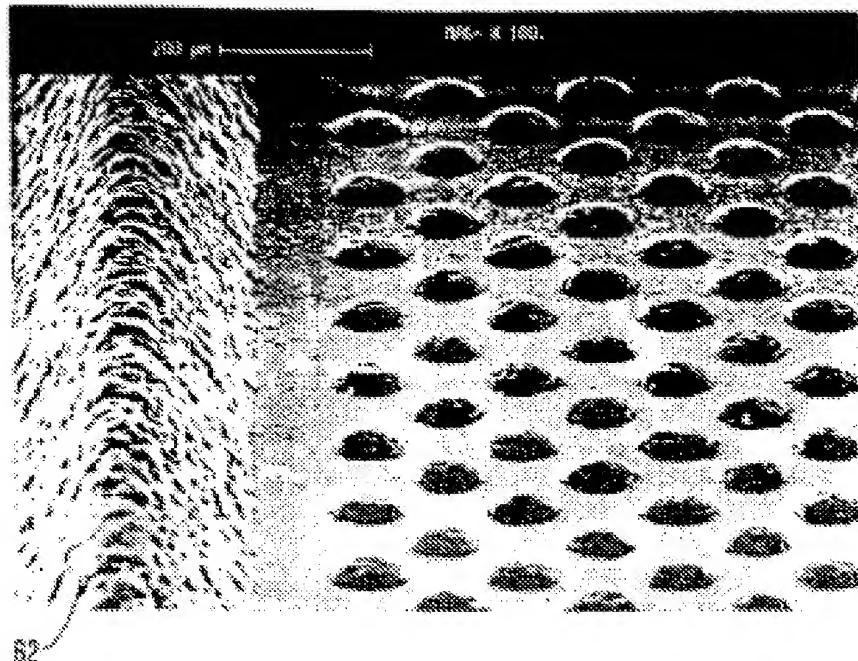
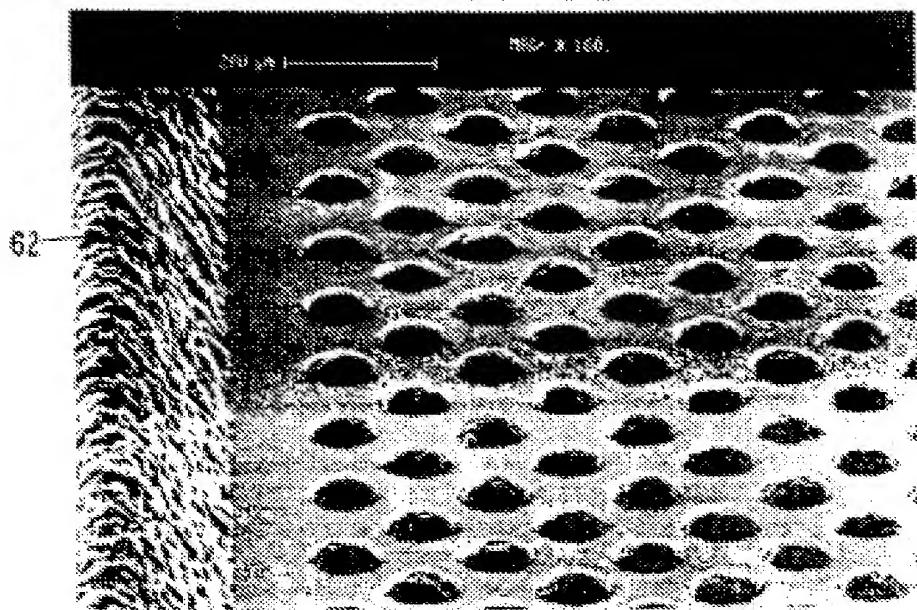


FIG. 16B.



【手続補正書】特許法第184条の8第1項

【提出日】平成11年4月22日(1999.4.22)

【補正内容】

請求の範囲を、以下と差し替える。

『 1. 試験サンプル中の標的リガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む前記分析用デバイス：

構造アレイであって、前記構造各々は、それへ共有結合的又は非共有結合的に付けられた固定化リガンド受容体を含む表面を含み；前記固定化リガンド受容体は標的リガンドへ結合することができるものである、前記構造アレイ；及び

1つ又はそれ以上のチャネルであって、前記チャネルを通じて標的リガンドを含有する試験サンプルが流れるとき、標的リガンドはチャネルの幅に渡って分散して前記固定化物へ結合するものである、前記チャネル。

2. 該標的リガンドが、分析物、分析物連結体、分析物類似体、分析物類似体連結体、補助的結合員、又は標識試薬である、請求項1に記載のデバイス。

3. 該分析物が、抗原、ヌクレオチド配列、レクチン、又はアビシンであり、前記固定化物が、抗体、相補的ヌクレオチド配列、炭水化物、又はビオチンからなる群から選択される、請求項2に記載の分析用デバイス。

4. 該構造が、以下を含む群から選択される材料上に置かれたコポリマー、ブレンド、ラミネート、金属化箔、金属化フィルム、又は金属から作られる、請求項1に記載の分析用デバイス：

ポリオレフィン、ポリエステル、ステレン含有ポリマー、ポリカーボネート、アクリル酸ポリマー、塩素含有ポリマー、アセタールホモポリマー及びコポリマー、セルロース類及びそのエステル、硝酸セルロース、フッ素含有ポリマー、ポリアミド、ポリイミド、ポリメチルメタクリレート、イオウ含有ポリマー、ポリウレタン、シリコン含有ポリマー、ガラス、シリコーン、並びにセラミック材料。

5. 該構造が、プラスチック、エラストマー、ラテックス、シリコンチップ、又は金属で作られる、請求項1に記載の分析用デバイス。

6. 該構造が、テフロン(登録商標)、ポリスチレン、ポリアクリレート、ポリカーボネート、ポリエチレン、ポリプロピレン、シリコンエラストマー、ポリ

スチレンラテックス、又は疎水性ポリマーで作られる、請求項5に記載の分析用デバイス。

7. 該構造が、ポリプロピレン、ポリエチレン又はポリエチルを含む疎水性ポリマーで作られる、請求項6に記載の分析用デバイス。

8. 該構造が、混練若しくは射出成形することのできるプラスチック、又は様々な鎖長のアルケンチオールに被着された銅、銻及び金のフィルムで作られる、請求項1に記載の分析用デバイス。

9. 該構造が、混練又は射出成形することのできるプラスチックを含む、請求項8に記載の分析用デバイス。

10. 該構造各々が、類似に形状づけられ、形状が、菱形、六角形、八角形、長方形、正方形、円形、半円形、三角形、及び橢円形からなる群から選択される、請求項1に記載の分析用デバイス。

11. 該構造アレイが、試験サンプルフローの方向に對してジグザグ配列である、請求項10に記載の分析用デバイス。

12. 該構造アレイが、前記試験サンプル中の多數のリガンドを試験することができる多數の固定化リガンド受容体を有する、請求項1に記載の分析用デバイス。

13. 試験サンプルを追加するためのリザーバであって、前記リザーバは構造アレイへ各々つながる複数の通路を含み、前記通路は前記リザーバから前記アレイへ試験サンプルを輸送することができるものをさらに含む、請求項1に記載の分析用デバイス。

14. 試験サンプル中のリガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む分析用デバイス：

入口孔及び通気孔；

構造アレイであって、構造各々は、共有結合的又は非共有結合的に表面に付けられた固定化リガンド受容体を供給する表面を有し、前記受容体は標的リ

リガンドへ結合することができるものである、前記構造アレイ；

1つ又はそれ以上のチャネルであって、前記チャネルを通って標的リガンドを含有する試験サンプルが流れるとき、前記標的リガンドは前記チャネルの幅に従って分散して前記固定化物へ結合する、前記チャネル；及び

検出可能な標識へ連結された特定の結合員を含む標識化試薬であって、前記標識は前記固定化受容体においてシグナルを発生し、試験サンプル中のリガンドの存在又は量を示すことができる前記標識化試薬。

15. 該リガンドが、分析物、分析物連結体、分析物類似体、分析物類似体連結体、又は補助的な結合員である、請求項1-4に記載のデバイス。

16. 試験サンプル中のリガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む方法：

入口孔、通気孔、1つ又はそれ以上のチャネル、及び構造アレイを含み、前記構造各々は、構造の少なくとも1つの表面上に固定化受容体を有し、前記受容体はリガンドと結合することができる前記構造アレイ含む分析用デバイスを提供し；

前記試験サンプルを前記入口孔に入れ、前記チャネルが前記試験サンプルを前記入口孔から前記構造アレイへ運搬し；

前記試験サンプルが前記チャネルに入り、前記リガンドが前記チャネルの幅に従って拡散し、そこで前記サンプルが固定化受容体を含む構造アレイと接触し、そこで前記サンプル中のリガンドが前記固定化受容体と結合し；そして、

検出可能な標識に連結された特定の結合員を含むリガンド検出システムを介して前記リガンドを検出し、前記検出可能な標識は前記受容体—リガンド結合物においてシグナルを発生することができ、前記サンプル中の前記リガンドの存在又は量を決定する。

17. 該リガンドが、分析物、分析物類似体、補助的な結合員、又は標識試薬である、請求項1-6に記載のデバイス。

18. 試験サンプル中のリガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む方法：

入口孔、通気孔、及び複数のチャネルを有する構造アレイを含む分析用デバイスであって、前記構造アレイがその表面にリガンド又はリガンド類似体に結合する事のできる固定化受容体を含む、前記分析用デバイスを提供し；

前記試験サンプルを前記構造アレイに接触するように置き、それによつて前記受容体がサンプル中のリガンドの存在に対応する量の前記リガンド又はリガンド類似体と結合し；そして

受容体と結合したリガンド又はリガンド類似体の量を決定することによつて前記試験サンプル中のリガンドの存在を検出する。

19. 該置くステップが、前記アレイ構造と接触するように前記試験サンプルを置き、そこで前記受容体がサンプル中のリガンドの存在に対応する量の前記リガンド又はリガンド類似体と結合することを含む、請求項18に記載の方法。

20. 構造間に1つ又はそれ以上のチャネルを有する構造アレイを有するマスタを提供し；そして

マスタのコピーを製造することを含め、マスタから分析用デバイスを製造する方法。

21. 試験サンプル中のリガンドの存在又は量を決定するための、以下を含む分析用デバイス：

断面で見たときに少なくとも1つの直線で挟まれた角を含むキャビラリースペースを含むチャンバであって、前記キャビラリースペースがそのルーメン表面に疎水性ゾーンを含む前記チャンバ；及び

該キャビラリースペースへ液体で接続された診断用エレメントであつて、前記診断用エレメントが少なくとも1つのゾーン中の少なくとも1つの連結物を固定する事のできるものである、前記診断用エレメント。

22. 該疎水性ゾーンが該直線で挟まれた角に接する、請求項21に記載の分析用デバイス。

23. 該疎水性ゾーンが、該直線で挟まれた角に近接した表面を実質的にカバーする、請求項21に記載の分析用デバイス。

24. 該疎水性ゾーンが、該角に近接した表面の1%～90%をカバーする。

請求項2-1に記載の分析用デバイス。

2-5. 該疎水性ゾーンが、親水性の表面に隣接している、請求項2-1に記載の分析用デバイス。

2-6. 該疎水性ゾーンが、キャビラリースペースに適合するように連結された材料の疎水性表面含むを含む、請求項2-1に記載の分析用デバイス。

2-7. 該疎水性表面が、該材料の表面の1%~90%をカバーする、請求項2-6に記載の分析用デバイス。

2-8. 該材料が、フィルター、膜又はメッシュを含む、請求項2-6に記載の分析用デバイス。

2-9. 該材料の該疎水性表面が該キャビラリースペースの該直線で挟まれた角に接して置かれることのできる、請求項2-6に記載の分析用デバイス。

3-0. 該疎水性ゾーンが、該材料に液体を加えると、該材料表面上に又は該材料内部に、液体の別個のエリアを定めることができる、請求項2-6に記載の分析用デバイス。

3-1. 請求項2-1に記載の分析用デバイスであって、さらに以下を含む前記デバイス：

疎水性ゾーンであって、該疎水性ゾーンに接してその上に置かれた液体を有することができ、該疎水性ゾーンは該疎水性ゾーンへの液体のフローを妨げるものである、前記疎水性ゾーン。

3-2. その上に置かれた液体を有することができる該疎水性ゾーンが、該キャビラリースペースの表面であり、該疎水性ゾーンが、該直線で挟まれた角に接するキャビラリースペースの中に含まれる、請求項3-1に記載の分析用デバイス。

3-3. その上に置かれた液体を有することができる該疎水性ゾーンが、該疎水性ゾーンの傾斜の床面に実質的に垂直なポストをさらに含み；前記ポストは、該ポスト表面と床面との間に直線で挟まれた角を規定し、前記ポストは該直線で挟まれた角に近接した疎水性の表面を含む、請求項3-1に記載の分析用デバイス。

3-4. 請求項2-1に記載の分析用デバイスであって、以下を含む前記デバイス：

前記キャビラリースペースの表面上で乾燥される試薬であって、該チャンバ中の該疎水性領域が、該試薬を含む液体のメニスカスの形成（該メニスカスの形成が該試薬の均一な乾燥を損なうことがある）が該直線で挟まれた角において形成されるのを妨げるものである、前記分析用デバイス。

3.5. 以下を含むアッセイデバイス：

サンプル追加リザーバー；

前記サンプル追加リザーバーと液体でつながったサンプル反応バリア；

反応チャンバであって、前記サンプル反応バリアと液体でつながって、その壁に少なくとも2つのフインガを有し、前記バリアが前記反応チャンバより高いキャビラリー作用を有する前記反応チャンバ；

前記反応チャンバと液体でつながって、液体を所望の流速で通過させることができるものであるタイムゲート；

前記タイムゲートと液体でつながって、少なくとも1つの連結体を少なくとも1つのゾーンに固定化し得る診断エレメント；及び

前記診断エレメントと液体でつながって、前記サンプル追加リザーバーから前記バリア、前記反応チャンバ、前記タイムゲート、前記診断エレメントと連続的に流れる液体が次に流れてくる使用済み試薬リザーバー。

3.6. 該サンプル追加リザーバーが、液体サンプルから粒子状の物質を分離することのできるフィルターを含む、請求項3.5に記載のデバイス。

3.7. 該サンプル反応バリアが、その表面上に複数のテクスチャー構造を含み、前記テクスチャー構造が、高さ約0.01～0.02mm、幅0.10～0.20、かつテクスチャー構造間の距離0.08～0.10mmを有する、請求項3.5に記載のデバイス。

3.8. 該反応バリアが、高さ約0.03～0.07mmを有するキャビラリースペースを含む、請求項3.5に記載のデバイス。

3.9. 該反応チャンバが、コーナーを含み、かつ前記コーナーに疎水性ゾーンを含む、請求項3.5に記載のデバイス。

4.0. 該反応バリアが、10の垂直な溝を含み、前記溝各々が高さ約0.02

~0.03 mmであり、かつ前記溝各々が約0.5~1.5 mm離れて開てされている、請求項3.5に記載のデバイス。

4.1. 該反応チャンバーが、高さ約0.03~1.0mm及び容積約0.2~6μlのキャビラリースペースを有し、請求項3.5に記載のデバイス。

4.3. 該反応チャンバーが、流体フローの主方向に対して垂直に配向されている複数の溝を含み、前記溝各々が高さ約0.03~0.07 mmであり、かつ近接した溝が約0.08~0.12 mm離れている。請求項3.5に記載のデバイス。

4.4. 該反映チャンバがエッジ又はコーナーを含み、前記エッジ又はコーナーに疎水性ゾーンを含む、請求項3.5に記載のデバイス

4.5. 该タイムゲートが、約0.02~0.12mmの高さで、液体フローの主方向に対して垂直に配置されている複数の溝を含み、前記溝各々が高さ約0.03~0.07mmであり、かつ近接した溝が約0.08~0.12mm離れている、請求項3.5に記載のデバイス。

4.6. 前診断エレメントが、約0.01~0.05 mmの高さで、かつ約0.5~3 μ lの容積を含む、請求項3.5に記載のデバイス。

47. 該診断エレメントが複数のテクスチャーコンポーネントを含み、前記テクスチャーコンポーネントのそれぞれが高さ約0.01～0.02mm、直径約0.03～0.07mmであり、かつ近接したテクスチャーコンポーネントが約0.04～0.09mm離れていく。請求項3.5に記載のデバイス。

48. 該診断エレメントがエッジ又はコーナーを含み、かつ前記エッジ又はコーナーに疏水性ゾーンを含む、請求項3-5に記載のデバイス。

4.9. 試験用試薬リザーバーが約0.01~0.05 mmの高さで、かつ約1 μLより多い容積を含む、試験用3.5に記載のデバイス。

チャ-構造の各々が高さ約0.01～0.02mm、直徑0.03～0.07mmであり、かつ近接したテクスチャ-構造が約0.04～0.09mm離れている、請求項3.5に記載のデバイス。

5.1. 該診断エレメントの表面と前記使用済み試薬リザーバの表面との間に位置付けられるデッドスペース領域をさらに含む、請求項3.5に記載のデバイス。

5.2. アッセイを実施することが可能なデバイスであり、前記デバイスはアッセイを実施している流体と接触している2つ又はそれ以上の表面を含み、第一の流体接触デバイス表面がその上に固定化された第一の免疫アッセイ試薬を含み、かつ第二の流体接触デバイス表面がその上に固定化された第二の免疫アッセイ試

薬を含むものである、前記デバイス。

5.3. アッセイされるべき流体がアッセイの間流れキャビラリースペースを含み、前記キャビラリースペースが2つ又はそれ以上の流体接触表面を含み、前記キャビラリースペースの第一の流体接触表面がその上に固定化された第一の免疫アッセイ試薬を含み、前記キャビラリースペースの第二の流体接触表面がその上に固定化された第二の免疫アッセイ試薬を含む、請求項5.2に記載のデバイス。

5.4. 該第一の免疫アッセイ試薬が前記第一の流体接触表面上に分散し得るほどに固定化され、該第二の免疫アッセイ試薬が前記第二の流体接触表面上に分散し得るほどに固定化され、又はいずれの免疫アッセイ試薬もいずれの流体接触表面に分散し得るほどに固定化されていることをさらに含む、請求項5.2に記載のデバイス。

5.5. 該第一の免疫アッセイ試薬が前記第一の流体接触表面上に分散し得ないほどに固定化され、前記第二の免疫アッセイ試薬が前記第二の流体接触表面上に分散し得ないほどに固定化され、又はいずれの免疫アッセイ試薬もいずれの流体接触表面に分散し得ないほどに固定化されている、請求項5.2に記載のデバイス。

5.6. 該キャビラリースペースが第三の流体接触表面を含み、このとき前記第

三のキャビラリースペースの表面がそこに固定化されている第三の免疫アッセイ試薬を含む、請求項5.2に記載のデバイス。

5.7. 該第三の免疫アッセイ試薬が該第三の液体接触表面に分散し得るほどに固定化されているか、又は前記第三の免疫アッセイ試薬が前記第三の液体接触表面に分散し得ないほどに固定化されている、請求項5.6に記載のデバイス。

5.8. 該キャビラリースペースが、固定化された免疫アッセイ試薬を含む粒子をさらに含む、請求項5.2に記載のデバイス。

5.9. アッセイを実施することが可能であるデバイスであつて、前記デバイスがストップ及びエネルギー・ディレクタを含み、

このとき、デバイスの製造の間に、該エネルギー・ディレクタは第一のデバイス部品を第二のデバイス部品に封止してデバイス内にキャビラリースペースを規定することに役立ち、かつ該ストップは均一な大きさを有するデバイスチャンバーの製造を可能にすることに役立つものである、前記デバイス。

6.0. 該ストップ及び該エネルギー・ディレクタが、単一の構造を含む、請求項5.9に記載のデバイス。

6.1. 該ストップ及び該エネルギー・ディレクタが、液体の流入し得ないデバイスのデッドスペース領域を定める、請求項5.9に記載のデバイス。

6.2. 該ストップが、ポスト又はリッジを含む、請求項5.9に記載のデバイス。

6.3. 該エネルギー・ディレクタが、ポスト又はリッジを含む請求項5.9に記載のデバイス。)

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 98/25681

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 801L3/00 601N36/00 //601N33/48, 601N33/50

According to International Patent ClassificationIPC or to the closest classification and IPC

B. PRIOR ART SEARCHED

IPC 6 801L 601N

Documentation searched and examined prior to the international filing date is not considered as prior art in the basic examination

Information not recorded during the international search may be taken into account in the basic examination

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Character of document, with respect to what constitutes of the relevant passages	Relevant to class No.
X	US 5 486 335 A (WILDLING PETER ET AL) 23 January 1996 cited in the application see column 1, line 48 - column 4, line 40 see column 3, line 63 - column 6, line 44 see column 9, line 48 - column 10, line 34 see figures 1-11 see column 6, lines 47 - column 7, line 36	1-13, 18, 28, 59, 62
A		21, 50
A		41
A		47-49, 55, 56
A	see column 11, line 56 - column 12, line 24 ----- -----	43

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- 10* document relating the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- 11* earlier document not published or later than the international filing date
- 12* document which uses the same disclosure as priority document or which is used to establish the priority date of another disclosure or other reasons not specified
- 13* document relating to an invention, less, auxiliary or other means
- 14* document published later than the international filing date

- 15* document published after the international filing date, prior to the date and not later than the application for which it is considered to be relevant to the examination of the application
- 16* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered valid or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- 17* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, even though such documents being combined in a particular way
- 18* document the use of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

6 September 1998

16. 09. 98

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P. O. Box 8040
803 9930 Munich
Fax: (+49-89) 599-25999, Telex 621499
Fax: (+49-89) 599-25916

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US 98/05681
PCT/US 98/05681

EXAMINED DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Classification of document with respect to date of filing of relevant passages	Reference to claim No.
X	US 4 829 010 A (CHANG TSE W) 9 May 1989	1-3, 5, 12-14, 22, 28, 38, 39-42
X	see column 1, line 55 ~ column 2, line 57 see column 1, line 55 ~ column 2, line 57 see column 3, line 21 ~ column 3, line 68 see column 4, line 13 ~ column 5, line 6 see claims 1,15,30-32; figures 1,4,8-10	27 21, 40
X	US 4 911 782 A (BROWN JAMES F) 27 March 1990	2, 4, 12, 24, 26, 28, 32, 58
X	see column 1, line 7 ~ column 1, line 13 see column 1, line 65 ~ column 2, line 5 see column 3, line 9 ~ column 3, line 26 see column 3, line 45 ~ column 5, line 26	21, 26, 27, 38, 36-38
X	see column 6, lines 31 ~ column 7, line 4 see claims 1,9-11; figures 1-8	40, 41
X	EP 0 695 941 A (AFFYMAX TECHNOLOGIES N.Y.) 7 February 1996 see the whole document	65, 67, 69
X	US 4 591 572 A (CHANG TSE-WEN) 27 May 1986 see the whole document	70-73
X	US 97 00442 A (UNIV WASHINGTON) 2 January 1997 see page 1, line 9 ~ page 1, line 14 see page 5, line 28 ~ page 6, line 13 see page 7, line 37 ~ page 10, line 12 see page 11, line 28 ~ page 12, line 6 see page 13, line 9 ~ page 13, line 33 see page 26, line 28 ~ page 28, line 22 see page 29, line 23 ~ page 30, line 79 see claims 1-8; figures 1,5,6,8	1-5, 11, 13-19, 21
X	see page 46, line 29 ~ page 46, line 38 see page 46, line 29 ~ page 46, line 32 see page 17, line 12 ~ page 17, line 16	48
		→/→

Form PCT/ISA/2001/000000 (2nd sheet of 2nd sheet)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

<input checked="" type="checkbox"/>	SEARCHED
	PCT/US 98/06681

EXAMINED DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		RELEVANT SECTION(S)
Category	Character of document, with indication where appropriate of the relevant passages	
1	WO 94 09366 A (ABBOTT LAB) 26 April 1994 see page 3, line 26 ~ page 4, line 31 see page 10, line 18 ~ page 11, line 27 see page 12, line 12 ~ page 13, line 16 see page 14, line 6 ~ page 14, line 11 see page 16, line 21 ~ page 17, line 36 see page 18, line 8 ~ page 19, line 36 see page 5, line 21 ~ page 5, line 35 see figures 1-8 see page 23, line 14 ~ page 23, line 28 ----- US 5 262 268 A (KUHN RAYMOND E ET AL) 13 April 1993 see the whole document ----- WO 97 02357 A (AFFYMATRIX INC (ANDERSON ROBERT C (US); LIPSHUTZ ROBERT J (US); KAY) 23 January 1997 see the whole document -----	21, 25-27, 29, 30, 35, 36 30 42 35, 39 41 27, 31, 35, 36 41, 43, 57 35, 36 31-38, 40-42
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		
36		
37		
38		
39		
40		
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		
49		
50		
51		
52		
53		
54		
55		
56		
57		
58		
59		
60		
61		
62		
63		
64		
65		
66		
67		
68		
69		
70		
71		
72		
73		
74		
75		
76		
77		
78		
79		
80		
81		
82		
83		
84		
85		
86		
87		
88		
89		
90		
91		
92		
93		
94		
95		
96		
97		
98		
99		
100		
101		
102		
103		
104		
105		
106		
107		
108		
109		
110		
111		
112		
113		
114		
115		
116		
117		
118		
119		
120		
121		
122		
123		
124		
125		
126		
127		
128		
129		
130		
131		
132		
133		
134		
135		
136		
137		
138		
139		
140		
141		
142		
143		
144		
145		
146		
147		
148		
149		
150		
151		
152		
153		
154		
155		
156		
157		
158		
159		
160		
161		
162		
163		
164		
165		
166		
167		
168		
169		
170		
171		
172		
173		
174		
175		
176		
177		
178		
179		
180		
181		
182		
183		
184		
185		
186		
187		
188		
189		
190		
191		
192		
193		
194		
195		
196		
197		
198		
199		
200		
201		
202		
203		
204		
205		
206		
207		
208		
209		
210		
211		
212		
213		
214		
215		
216		
217		
218		
219		
220		
221		
222		
223		
224		
225		
226		
227		
228		
229		
230		
231		
232		
233		
234		
235		
236		
237		
238		
239		
240		
241		
242		
243		
244		
245		
246		
247		
248		
249		
250		
251		
252		
253		
254		
255		
256		
257		
258		
259		
260		
261		
262		
263		
264		
265		
266		
267		
268		
269		
270		
271		
272		
273		
274		
275		
276		
277		
278		
279		
280		
281		
282		
283		
284		
285		
286		
287		
288		
289		
290		
291		
292		
293		
294		
295		
296		
297		
298		
299		
300		
301		
302		
303		
304		
305		
306		
307		
308		
309		
310		
311		
312		
313		
314		
315		
316		
317		
318		
319		
320		
321		
322		
323		
324		
325		
326		
327		
328		
329		
330		
331		
332		
333		
334		
335		
336		
337		
338		
339		
340		
341		
342		
343		
344		
345		
346		
347		
348		
349		
350		
351		
352		
353		
354		
355		
356		
357		
358		
359		
360		
361		
362		
363		
364		
365		
366		
367		
368		
369		
370		
371		
372		
373		
374		
375		
376		
377		
378		
379		
380		
381		
382		
383		
384		
385		
386		
387		
388		
389		
390		
391		
392		
393		
394		
395		
396		
397		
398		
399		
400		
401		
402		
403		
404		
405		
406		
407		
408		
409		
410		
411		
412		
413		
414		
415		
416		
417		
418		
419		
420		
421		
422		
423		
424		
425		
426		
427		
428		
429		
430		
431		
432		
433		
434		
435		
436		
437		
438		
439		
440		
441		
442		
443		
444		
445		
446		
447		
448		
449		
450		
451		
452		
453		
454		
455		
456		
457		
458		
459		
460		
461		
462		
463		
464		
465		
466		
467		
468		
469		
470		
471		
472		
473		
474		
475		
476		
477		
478		
479		
480		
481		
482		
483		
484		
485		
486		
487		
488		
489		
490		
491		
492		
493		
494		
495		
496		
497		
498		
499		
500		
501		
502		
503		
504		
505		
506		
507		
508		
509		
510		
511		
512		
513		
514		
515		
516		
517		
518		
519		
520		
521		
522		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Search Aggregation No.
PCT/US 98/05181

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5466335 A	23-01-1996	US 5723828 A AT 1357113 A AT 1676318 A AT 1466226 A AT 1466227 A AU 6777780 A AU 42221393 A AU 6801950 A AU 4122630 A AU 6777781 A AU 4222631 A AU 4222793 A AU 6771932 A AU 4222632 A CA 2134474 A CA 2134475 A CA 2134476 A CA 2134477 A CA 693034837 A CA 693034838 A CA 693034839 A CA 693034840 A CA 693124837 A CA 693124838 A CA 693124839 A CA 693124840 A CA 693124841 A CA 693124842 A CA 693124843 A CA 693124844 A CA 693124845 A CA 693124846 A CA 693124847 A CA 693124848 A CA 693124849 A CA 693124850 A CA 693124851 A CA 693124852 A CA 693124853 A CA 693124854 A CA 693124855 A CA 693124856 A CA 693124857 A CA 693124858 A CA 693236933 A CA 693220544 A	10-03-1998 10-06-1997 10-07-1998 10-07-1996 10-08-1996 09-05-1997 29-11-1993 24-10-1997 29-11-1993 09-03-1997 29-11-1993 29-11-1993 27-10-1997 28-11-1993 28-11-1993 28-11-1993 08-08-1996 06-02-1997 06-06-1996 26-02-1997 04-09-1997 12-10-1998 06-02-1998 15-02-1998 15-02-1998 01-11-1997 30-04-1998 10-02-1997 10-07-1998 10-07-1995 10-07-1996 10-07-1996 10-07-1996 10-07-1996 10-07-1996 10-07-1996 10-07-1996 10-07-1996 10-07-1996

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

SEARCH APPENDIX NO
PCT/US 98/05681

Patent document cited in search report	Publication date	Priority numbers	Publication date
US 5485835 A		80 9322621 A 80 9322653 A 80 9322658 A	13-07-1993 13-07-1993 13-07-1993
US 4829010 A	09-05-1989	DE 3876799 A EP 0353233 A JP 2502569 T US 8837201 A	22-01-1993 07-02-1990 16-08-1990 22-09-1988
US 4911782 A	27-03-1991	US 5503503 A US 5790152 A	02-04-1996 08-04-1993
EP 0695941 A	07-02-1995	AU 2943695 A EP 0784214 A EP 8166387 A JP 10505418 T US 9533848 A	04-01-1995 26-03-1997 25-06-1996 26-05-1996 14-12-1995
US 4591870 A	27-05-1990	DE 3486786 A EP 0138542 A JP 60500732 T US 8403151 A	20-07-1990 03-04-1986 16-05-1985 16-08-1984
WO 9700442 A	03-01-1997	US 6541596 A EP 0839318 A	19-01-1997 06-05-1998
WO 9409366 A	26-04-1994	AU 4926393 A CA 2144976 A EP 0664000 A JP 6502361 T	09-05-1994 28-06-1994 26-07-1995 12-03-1996
US 5202268 A	13-04-1993	NONE	
WO 9702367 A	23-01-1997	AU 5404996 A EP 0843734 A	08-02-1997 27-05-1998

プロントページの統計

(81) **総計** EP(AT, BE, CH, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L
U, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF
, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE,
SN, TD, TG), AF(GH, GM, KE, LS, M
W, SD, SZ, UG, ZW), SA(AM, AZ, BY
, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM
, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY,
CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, E
S, FI, GB, GE, GH, GM, CW, HU, ID
, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ,
LC, LS, LR, LS, LT, LU, LV, MD, M
G, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT
, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, Y
U, ZW